Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Philosophischen Fakultät

der

Vereinigten Friedrichs-Universität Halle-Wittenberg

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

vorgelegt

von

Rudolf Glade
aus Magdeburg.

Halle (Saale)
1914.

Referent: Prof. Dr. **G. Karsten.**

Tag der mündlichen Prüfung: 16. Dezember 1913.

Erscheint auch in: Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Begründet von Prof. Dr. Ferd. Cohn, herausgegeben von Dr. Felix Rosen, Band XII, S. 295 ff.

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit gewidmet.

Übersicht.

Seite

I. Einleitung 1

II. Methodik: Gewinnung und Isolierung der Arten 1

III. Morphologie.

a. Beschreibung der gefundenen Arten 11

b. Die Entstehung und Keimung der Spore 16

IV. Physiologie.

a) Ermittlung geeigneter Wachstumsbedingungen 23

b) Die Frage der Stickstoffassimilation 31

c) Der Einfluß der Nährlösung auf Sporenbildung und Keimung . . . 35

d) Einfluß der Trockenheit und extremer Temperaturen auf die Sporen. 40

V. Ökologisches 47

Zusammenfassung 48

Literaturverzeichnis 50

Erklärung der Tafeln 51

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544302_0294

Zur Kenntnis der Gattung Cylindrospermum.

Von **Rudolf Glade.**

(Mit 2 Tafeln.)

I. Einleitung.

Beijerinck beschreibt in seiner Arbeit über oligonitrophile Mikroben (Literaturverzeichnis 2 u. 12) folgenden Versuch: Ziemlich große Standgläser wurden mit einer Lösung, die aus Leitungswasser und 0,02% sekundärem Kaliumphosphat bestand, ungefähr bis zur Hälfte gefüllt. In diese Gefäße wurde je eine Messerspitze voll Erde getan und die Kulturen dann an einem Nordfenster aufgestellt. Nach einiger Zeit, ungefähr sechs bis acht Wochen, bildete sich in den so behandelten Gläsern eine üppige Vegetation von sporenbildenden Cyanophyceen, wie Nostoc, Anabaena, Cylindrospermum.

Dieser Versuch wurde am 19. Februar 1912 im Botanischen Institut Halle wiederholt. Die dazu benutzte Erde stammte aus dem Garten des Institutes. Nach ungefähr sechs Wochen war in den Kulturgefäßen ein üppiger, blaugrün bis schwarz gefärbter Rasen von Cyanophyceen zu bemerken. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß es sich hauptsächlich um eine Nostocart handelte. Daneben fanden sich jedoch auch, eng verfilzt mit den Nostocfäden, Fäden und Sporen einer Cylindrospermumart. Da in der Literatur Eingehenderes über die Physiologie dieser Gattung nicht zu finden war, weder über die Keimung der sonderbar geformten Dauerzelle, noch über etwaige Kulturbedingungen, anderseits Beijerinck annimmt, daß diese ganze Gruppe von Cyanophyceen imstande sei, den Stickstoff der Luft zu assimilieren, so beschloß ich, diese Gattung eingehender zu untersuchen.

II. Methodik.

In Lemmermanns „Kryptogamenflora“ (Verz. 7) S. 193 werden neun Arten der Gattung Cylindrospermum beschrieben. Da eine eingehendere Arbeit mir nicht bekannt war, so benutzte ich dieses Buch zum Bestimmen der von mir kultivierten Arten. Es handelte sich zuerst darum, möglichst alle in Deutschland vorkommenden Spezies zu gewinnen und dann artreine, wenn möglich sogar absolut reine

Kulturen zu züchten. Da der Beijerincksche sogenannte Anhäufungsversuch schon eine Art ergeben hatte, so beschloß ich, diese Methode weiter zu benutzen, zumal durch einfaches Suchen in der Natur nur in einem Falle ein Erfolg zu verzeichnen war. Auf einem Gartengrundstück in Naumburg, das früher eine sumpfige Wiese gewesen war, fand mein Kollege H. Maertens an schattigen Stellen den Boden mit einem dichten schwarz-grünen Rasen von Cyanophyceen bedeckt. Es ergab sich, daß dieser Rasen fast ausschließlich aus Cylindrospermum minutissimum bestand. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen entdeckte ich auch im botanischen Garten zu Halle noch eine Stelle, wo man größere, makroskopisch sichtbare Mengen von Cylindrospermum fand, doch kam diese Stelle für die Gewinnung der Arten nicht in Betracht, da ich diese Spezies, Cylindrospermum licheniforme, schon durch den ersten Anhäufungsversuch nach Beijerinck erhalten hatte. Es sei gleich hier bemerkt, daß ich später noch eine zweite Form von Cylindrospermum licheniforme erhielt. Auf die Unterscheidungsmerkmale, von denen sich eine ganze Reihe sowohl morphologischer als auch physiologischer Art fand, komme ich in den folgenden Kapiteln zu sprechen. Die zuerst gefundene Form möge Cylindrospermum licheniforme forma typica, die spätere forma Lemmermanni heißen.

Es handelte sich nun darum, weitere Arten zu beschaffen. Ich wiederholte daher den Anhäufungsversuch mit Erde von verschiedenen Orten und erhielt, wenn auch nicht in allen Fällen, doch vielfach Kulturen von Cylindrospermum. Zu diesem Zwecke sammelte ich eine große Anzahl von Erdproben unter möglichster Berücksichtigung solcher Stellen, die für Cyanophyceen günstig zu sein schienen. Bei einiger Übung ist es nicht schwer, nach der Beschaffenheit der Erde und nach ihrer Farbe zu sagen, ob es wahrscheinlich ist, daß sie Sporen von Cyanophyceen enthält, auch wenn makroskopisch kein Algenüberzug zu sehen war. Teilweise sammelte ich die Erdproben selbst bei Exkursionen, ein großer Teil wurde mir aber auch von verschiedenen Orten zugeschickt. Herr Prof. Kniep besaß die Liebenswürdigkeit, mir aus Straßburg eine Reihe von Erdproben zu schicken, Herr Dr. Pringsheim brachte mir einige Proben aus Nordafrika mit. Durch die Freundlichkeit des Herrn Geheimrat Dr. Paasche erhielt ich eine weitere Serie von seinem Gute in der Neumark sowie aus Tsingtau (Ostasien). Endlich brachte mir mein Kollege Maertens eine Reihe von Erdproben aus Naumburg mit. Ich möchte allen genannten Herren meinen Dank aussprechen für ihre liebenswürdigen Bemühungen.

Als Kulturgefäße benutzte ich Einmachegläser von 15 bis 20 cm Höhe, die bis zur Hälfte mit der schon angegebenen Nährlösung, Leitungswasser + 0,02% Kaliumphosphat, gefüllt waren. Sterilisiert

wurden die Lösungen nicht; um das Eindringen von Staub etc. zu verhindern, wurde über jedes Gefäß ein Glasdeckel gelegt. Die folgenden Protokolle zeigen die sehr allgemeine Verbreitung, die den Sporen von Cyanophyceen im Boden zukommt. Cylindrospermum trat relativ selten auf.

1. Versuchsreihe.

Kultur 1. Schlamm aus einem eingetrockneten Teiche bei Cönnern.	Ergebnis: Cylindrospermum muscicola, fast rein, nur wenig Nostoc spec.
Kultur 2. Erde aus Cönnern, Grabenrand	Ergebnis: Nostoc spec.; geringe Mengen von C. muscicola.
Kultur 3. Teichschlamm aus Friedrichsbrunn i. Harz	Nostoc spec.; geringe Mengen von Cylindrospermum (wurde weiter kultiviert und zeigte sich identisch mit C. muscicola).
Kultur 4. Erde aus Friedrichsbrunn, Bachufer	Nostoc spec.
Kultur 5. Erde aus Friedrichsbrunn, Wiese	Nur wenige Grünalgen.
Kultur 6. Friedrichsbrunn, steiniger Waldboden	Nichts gewachsen.

Zu der nächsten Versuchsreihe wurde Erde benutzt von der Stelle, wo Cylindrospermum minutissimum gefunden war. Der eigentliche Zweck dieses Versuches war, neues Material von dieser Art zu beschaffen, da die schon vorher gewonnenen Kulturen durch einen Zufall verloren gegangen waren. Es ergab sich, daß diese Stelle im hohen Maße günstig für das Gedeihen von Cylindrospermum sein mußte. Es wurden nämlich außer C. minutissimum noch drei weitere Arten gefunden. Die Erde für diesen Versuch wurde mitten im Winter von der schon vorher bekannten Stelle entnommen. Es war von den im Sommer gefundenen Algenmassen nichts zu bemerken, die Erde war hart gefroren und konnte nur mit Mühe losgebrochen werden. Es wurden dann, mitten im Winter, drei Kulturen mit dieser Erde angesetzt; nachdem sie über zwei Monate sich selbst überlassen waren, ergaben sie folgendes Resultat.

2. Versuchsreihe.

Kultur 1. Gartenerde aus Naumburg	Nostoc spec.; geringe Mengen von C. minutissimum; üppige Rasen von C. catenatum.
Kultur 2. Naumburg, Gartenerde	Nostoc spec.; am Boden des Gefäßes dicke braunschwarze Rasen von C. licheniforme forma Lemmermanni.
Kultur 3. Naumburg, Gartenerde	Nostoc spec.; geringe Mengen von C. majus.

Es gelang also, aus der Erde von dieser Stelle vier verschiedene Cylindrospermumarten zu gewinnen, obwohl in dem ursprünglich gefundenen Rasen nur C. minutissimum zu entdecken war. Die Sporen der anderen Arten müssen natürlich schon darin gewesen sein, jedenfalls aber in so geringer Menge, daß auch die mikroskopische Untersuchung sie nicht entdecken konnte. Allein der Beijerinckschen Methode ist es also zu verdanken, daß auch die zuerst übersehenen Spezies gefunden wurden.

Diese Erfolge berechtigten zu der Hoffnung, daß weitere Versuche ähnliche Resultate erzielen würden. Leider wurde diese Vermutung nicht in dem Maße bestätigt, wie ich es erwartet hatte. Immerhin geben die folgenden Protokolle, wenn auch neue Cylindrospermumarten durch diese Versuche nicht gewonnen werden konnten, ein anschauliches Bild von dem Reichtum der Bodenflora an Cyanophyceen. Es wurden die verschiedensten Vertreter sporenbildender Spaltalgen gefunden; sie wurden nicht näher bestimmt, da diese Arbeit hauptsächlich auf die Gattung Cylindrospermum beschränkt wurde. Ich bin jedoch sicher, daß eine im größeren Stile vorgenommene Wiederholung dieser Anhäufungsversuche viel floristisch Neues und Interessantes ergeben würde. Schon bei meiner doch noch geringen Anzahl traf ich auf Formen, die ich mit dem besten Willen nicht bestimmen konnte, die also zweifellos noch garnicht bekannt sind. Es bleibt noch hinzuzufügen, daß die Erdproben für die folgenden Versuchsreihen vollständig ausgetrocknet waren, als sie zur Verwendung kamen. Sie ergaben trotzdem gutes Wachstum von Cyanophyceen.

3. Versuchsreihe. Erdproben aus dem Harz.

Kultur 1. Gipsfelsen bei Ellrich	Kleine, knäuelige Polster einer Nostoc spec. in geringen Mengen gewachsen.
Kultur 2. Höhle im Gips bei Ellrich, ziemlich feucht und dunkel	Nostocähnliche Cyanophycee, nicht bestimmbar, mit eigenartiger Entwicklung.
Kultur 3. Schattiger Wald (Buchen)	Nur wenige einzellige Cyanophyceen.
Kultur 4. Ackerkrume bei Ellrich	Cylindrosp. spec. Die Art war nicht zu bestimmen, da nach über 2 Monaten noch keine Sporen gebildet waren, die Fäden wurden gelb.
Kultur 5. Feuchter Straßengraben bei Walkenried	Cylindrospermum muscicola, Nostoc spec.
Kultur 6. Bachufer bei Braunlage	Nur einige Grünalgen gewachsen.
Kultur 7. Rotes Bruch, Hochmoor bei Braunlage, trockener Torf	Nichts gewachsen.

Kultur 8. Rotes Bruch, Schlamm aus einer Pfütze	Nichts gewachsen.
Kultur 9. Herrmannshöhle, aus dem Bereich des elektr. Lichts	Nostoc spec.
Kultur 10. Rübeland, schmutziger Rinnstein	Wenige Oscillarien gewachsen.
Kultur 11. Wie 9.	Nostoc spec. gewachsen.
Kultur 12. Wie 9.	Nostoc spec. mit sehr großen Sporen gewachsen.
Kultur 13. Straßenrand bei Treseburg	Wenige Grünalgen gewachsen.
Kultur 14. Altes Wagengeleise, feucht, bei Treseburg	Cylindrospermum licheniforme, Nostoc spec.

4. Versuchsreihe. Erdproben aus Naumburg.

Kultur 1. Feuchte Erde von einem alten Saalearm	Nostoc spec., grüne Fadenalgen.
Kultur 2. Erde unter Kastanien, Bürgergartenpromenade	Nostoc spec., vereinzelt Cylindrosp. spec. nicht zu bestimmen, da Sporen fehlten.
Kultur 3. Bürgergarten, schattige Stelle im Gebüsch	Nostoc spec., verfilzt mit Cylindrospermum licheniforme.
Kultur 4. Feuchte Grabensohle	Cylindrospermum spec. nicht zu bestimmen, da Sporen fehlten.
Kultur 5. Salzhaltiger Abfluß aus der Saline, Kösen	Nichts gewachsen.
Kultur 6. Feuchte Stelle in einer Kiesgrube, sonnig	Sehr kleine Nostoc spec.
Kultur 7. Knabenberg, in einer feuchten Senkung unter Bäumen	Verschiedene Nostocarten.
Kultur 8. Saaleufer bei Kösen	Sehr kleine Nostoc spec.

5. Versuchsreihe. Erdproben aus der Neumark.

Kultur 1. Fundstelle nicht bezeichnet	Cylindrospermum spec. mit fast runden Sporen, ging leider bei Kulturversuchen ein.
Kultur 2. Fundstelle nicht bezeichnet	Nostoc spec., einige Oscillarien.
Kultur 3. Schattige Stelle im Gebüsch	Cylindrospermum licheniforme.
Kultur 4. Bachufer, zwischen Schilf	Anabaena cylindrica, Nostoc spec.
Kultur 5. Schattiger Kiefernwald	Nostoc spec. mit sehr dünnen Fäden.
Kultur 6. Sandboden	Nostoc spec.

Die Erdproben aus Straßburg waren leider nicht mit genaueren Fundortsangaben versehen. Da eine weitere Cylindrospermumart aus dieser Versuchsreihe nicht gewonnen wurde, kann ich auf die Aufzeichnung des Protokolls verzichten.

6. Versuchsreihe. Ausländische Erdproben.

Kultur 1. Aus Tsingtau, Erde von der Wurzel einer von dort gesandten Zierpflanze	Ganz kleine Nostoc spec. gewachsen.
Kultur 2. Wie 1	Nichts gewachsen.
Kultur 3. Oase Biskra	Nostoc spec. mit sehr kleinen Sporen.
Kultur 4. Warme Quelle, Tunesien	Oscillarien in geringer Menge gewachsen.

Die Resultate dieser Versuche zeigen, daß die Gattung Cylindrospermum doch nicht so verbreitet ist, wie man nach der Probe mit der Gartenerde aus Naumburg hätte annehmen können. Diese Stelle muß ganz besondere Eigenschaften haben, die das Wachstum von Cylindrospermum begünstigen, während Nostocarten dort fast gar nicht vorkommen. Aus den später folgenden physiologischen Versuchen wird man auch den Grund für dieses Verhalten finden.

Die Nostocarten ähnelten sich zum Teil sehr, es ist auch wahrscheinlich, daß darunter manche Form sich befand, die wohl besser in die Gattung Anabaena einzureihen wäre. Es ist sehr schwierig, mit Sicherheit zu entscheiden, ob man eine vorliegende Alge als Nostoc oder als Anabaena ansprechen soll, wenn man die Art des Wachstums an natürlichen Standorten nicht zum Vergleich heranziehen kann. Eine dieser Arten wurde unter der Bezeichnung Nostoc spec. in Kultur genommen, um ein Vergleichsobjekt bei den physiologischen Versuchen zu haben.

Die nach den angeführten Methoden gewonnenen Arten mußten nun isoliert werden, dann war zu versuchen, absolute Reinkulturen herzustellen. Sämtliche Arten mit Ausnahme von C. minutissimum wurden nach der Beyerinckschen Anhäufungsmethode gewonnen. Die einfachste und geeignetste Nährlösung, in der sämtliche Arten gut wuchsen, und die sie auch alle passierten, (auch C. minutissimum wurde darin kultiviert), war also Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 + eine Spur Erde. Späteren Kulturen, die dieselbe Zusammensetzung haben sollten, wie die Anhäufungen, aber sterilisiert werden sollten, wurde zuerst an Stelle von Erde eine Spur Erdabkochung zugesetzt. Man konnte diese Erdabkochung aber ebensogut weglassen, ohne das Wachstum im geringsten zu beeinträchtigen.

Beim Übergang zu Kulturen mit künstlich zusammengesetzten Nährlösungen bestätigten sich die Erfahrungen von E. G. Pringsheim

(Verz. 8, 9) auch für die von mir untersuchten Algen. Ich benutzte daher zur Herstellung von Nährlösungen nur Wasser, das in Jenenser Glasgefäßen zum zweiten Male destilliert war. Gleichfalls kamen nur die reinsten Salze von Merck und Kahlbaum bei der Herstellung der Lösungen zur Verwendung. Jeder Erlemeyerkolben, der bei diesen Kulturversuchen benutzt wurde, war zuvor mehrere Male mit Chromschwefelsäure behandelt worden, um etwaige Spuren von Fremdstoffen, die dem Glase anhaften konnten, zu entfernen.

Sehr gut und üppig wuchsen die Algen immer auf Kieselgallerte sowie auf Gipsblöcken oder Tonplatten. Die Herstellung dieser Substrate ist bei Küster (Verz. 5) sowie in den Pringsheimschen Arbeiten eingehend beschrieben. Die Algen breiteten sich auf diesen Nährböden gut aus und bildeten nach der Sporenreife einen dicken, gleichmäßigen Überzug. Wenn man dann solche Kulturen eintrocknen ließ, so konnte man von Gipsblöcken die Sporen leicht abschaben, Tonscherben konnten einfach mit den anhaftenden Algen zerkleinert werden, sodaß man jederzeit gutes Material z. B. für physiologische Versuche besaß. Derartige Manipulationen wurden immer im Impfkasten vorgenommen; nur durch diese Vorsichtsmaßregel konnte eine Pilzinfektion der Kulturen verhindert werden. Pilze gelangten auch noch auf anderem Wege leicht auf die Algenrasen. Hauptsächlich waren Petrischalen mit Kieselgallerte immer dieser Gefahr ausgesetzt. So war darauf zu achten, daß die Deckel der Schalen gut paßten, da durch ein Verschieben derselben leicht Pilzsporen auf die Kulturen gelangten. Noch leichter geschah dies, wenn man die Platten im geschlossenen Sterilisator nicht genügend auskühlen ließ. Die Schalen sogen dann die mit Pilzsporen überladene Luft des Laboratoriums ein. Die Pilze störten öfters die Versuche in hohem Maße, da sie auch beim Impfen leicht in die Kulturen gerieten und dort von abgestorbenen Algenfäden lebten. Um sie zu entfernen, mußte immer eine große Anzahl von Petrischalen gebrauchsfertig sein. Eine Zeitlang waren sämtliche Kulturen von C. muscicola mit Pilzen verunreinigt. Nur durch häufiges Überimpfen auf Kieselgallerte gelang es, diese Art wieder zu säubern.

Bei den Versuchen zur Keimung der Dauerzellen wurden auch Hängetropfenkulturen in feuchten Kammern benutzt. Das Sterilisieren dieser Kulturen bereitete ziemliche Schwierigkeiten. Anfangs wurde die fertige Deckglaskultur ohne Nährlösung, also Objektträger, mit Wasserglas aufgekitteter Glasring und Deckglas, im Trockenschrank auf 110° erhitzt und nachträglich ein Tropfen steriler Nährlösung unter das Deckglas gebracht. Beim Erhitzen im Trockenschrank sprang jedoch meistens die Kittung wieder ab. Außerdem hatte die Methode den Nachteil, daß beim nicht zu vermeidenden Herumtragen

der sterilen Kulturen die Deckgläser häufig herunterfielen. Es wurden daher später nur noch letztere geglüht (auf einer Kupferplatte) und dann auf den mit Vaseline versehenen Ring gesetzt. Die sterile Nährlösung wurde dann ebenfalls nachträglich hinzugefügt.

Es war nun zunächst jede Art von anderen Algen und sonstigen Verunreinigungen mit Ausnahme der Bakterien zu trennen. Die erste Art, bei der mir dies gelang, war Cylindrospermum licheniforme forma typica. Da die Alge ziemlich verfilzt mit Nostoc. spec. auftrat, so bereitete ihre Trennung die meiste Mühe. Die ersten Versuche, die beiden Arten unter dem Mikroskop zu isolieren, schlugen sämtlich fehl. Ich benutzte für diese Versuche nur Petrischalen mit Kieselgallerte, da das geimpfte Material auf diese Weise immer mikroskopisch kontrolliert werden konnte. Dabei ergab es sich, daß Nostoc schneller wuchs als Cylindrospermum, so daß es nicht möglich war, trotz wiederholten Abimpfens von der günstigsten Stelle, die beiden Arten zu trennen.

Verschiedene andere Wege wurden nunmehr eingeschlagen, um zum Ziele zu gelangen. Da die Sporen von Nostoc bedeutend dünnwandiger und kleiner sind als die von Cylindrospermum, versuchte ich durch intensives Austrocknen etwas zu erreichen. Sporenmaterial, das unter dem Mikroskop ausgesucht war, und zum größten Teile Cylindrospermum enthielt, daneben natürlich Nostoc in geringen Mengen, wurde auf Fließpapier angetrocknet und vierzehn Tage in den Exsikkator gestellt. Ich glaubte dadurch die kleineren Dauerzellen von Nostoc, wenn auch nicht abgetötet, so doch wenigstens in der Entwicklung gehemmt zu haben. Beim Aussäen ergab sich jedoch, daß wiederum Nostoc sofort alles überwucherte. Ich versuchte nunmehr die Sporen nach der Kochschen Trennungsmethode mit Agar-Agar zu isolieren. Als Nährlösung für den Agar wurde Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 + Spur Erdabkochung gewählt, um die Ernährungsbedingungen möglichst gleich zu lassen. Es gelang auch wirklich, eingetrocknetes Sporenmaterial im Mörser soweit zu zerreiben, daß die Dauerzellen nach dem Plattenguß einzeln lagen. Die meisten waren freilich so mit Bakterien behaftet, daß nach kurzer Zeit die ganze Stelle trübe und undurchsichtig wurde. Aber auch die wenigen Sporen, die nicht mit Bakterien infiziert waren, keimten trotz langer Beobachtungsdauer nicht aus.

Schließlich führte ein anderer Weg zum Ziele. Bei Durchsicht der ersten Schalenkulturen, die einfach roh geimpft waren und nun über die ganze Kieselsäureschicht mit Nostoc bedeckt waren, machte ich folgende Beobachtung. Die Fäden von Nostoc bildeten auf der Kieselgallerte ganz charakteristische, ziemlich große Schleifen. In dem leeren Raum zwischen den einzelnen Windungen befanden sich

an vielen Stellen reichliche Mengen von Cylindrospermum. Unter dem Präpariermikroskop konnte eine solche Stelle gut herausgenommen werden, denn die ganze, von Nostoc freie Fläche war damit bedeckt. Es war also die verschiedene Art des Wachstums, die die Trennung ermöglichte.

Die anderen Spezies bereiteten bei weitem nicht solche Schwierigkeiten. C. minutissimum kam an dem natürlichen Fundort so rein vor, daß man nur ein beliebiges Stück des Rasens zu impfen brauchte, um sofort eine saubere Kultur zu haben. Diatomeen traten zwar noch vereinzelt auf, sie krochen jedoch ziemlich schnell zentrifugal über das Substrat hin, sodaß sie durch nochmaliges Überimpfen leicht beseitigt werden konnten. Ich ließ zu diesem Zwecke das geimpfte Stück Rasen sich vier bis fünf Tage ausbreiten. Die Diatomeen krochen dann zum größten Teile aus dem Bereich der Algen heraus. Ich impfte dann nicht vom Rande der Kultur ab, sondern aus der Mitte, weil dort die wenigsten Diatomeen waren. Wenn man diese Manipulation einige Male wiederholte, so kam man schließlich zu sauberen Kulturen.

C. muscicola war in der einen Anhäufungskultur ebenfalls sehr rein vorhanden, beim Impfen auf Kieselgallerte zeigten sich zwar gleichfalls viele Diatomeen, die aber auf die beschriebene Art und Weise leicht beseitigt werden konnten. C. catenatum ließ sich auch leicht von anderen Algen trennen. In der ersten Impfung waren freilich überwiegend Nostocfäden. Das Verfahren konnte jedoch bedeutend abgekürzt werden. Die betreffende Petrischale hatte eine Kieselgallerteschicht, die einige Risse durch das Sterilisieren bekommen hatte. In diesem Riß wuchsen die Cylindrospermumfäden sehr schnell entlang. Am Ende der Spalte traten sie wieder auf die Oberfläche des Substrats und bildeten dort einen kleinen, aber sehr sauberen Rasen. So gelang es, schon in der zweiten Impfung, Nostoc und Diatomeen vollständig zu überwinden. Zuletzt wurden artrein erhalten C. licheniforme forma Lemmermanni und C. majus. Erstere bereitete keine weiteren Schwierigkeiten, nur Diatomeen machten ein öfteres Impfen nötig. C. majus hingegen ähnelte in der Schwierigkeit der Trennung der zuerst isolierten Art. Dafür ist hauptsächlich das außerordentlich langsame Wachstum dieser Art verantwortlich zu machen.

Später, nachdem die Algen artrein gewonnen waren, wurden auch Versuche angestellt, absolute Reinkulturen zu gewinnen. Am geeignetsten erschien mir dazu die neue Methode von E. G. Pringsheim (Verz. 9). Es wurden also drei Arten, ich nahm als allein aussichtsreich die einigermaßen sich rasch ausbreitenden Arten, C. licheniforme forma typica, C. muscicola und C. minutissimum, auf Kieselgallerte möglichst oft übergeimpft. Ich suchte jedesmal unter dem Mikroskop

die am weitesten von dem Ausgangspunkt der Kultur entfernten Fäden heraus und übertrug sie dann auf eine neue Schale. Nach sehr häufigem Umimpfen auf Kieselgallerte brachte ich schließlich ein Stückchen Rasen versuchsweise auf eine Platte, die Agar und Heyden-Nährstoff enthielt. Es entwickelte sich natürlich eine Bakterienkolonie, aber auch die Algen wuchsen an. Sie breiteten sich jedoch so langsam aus, daß sie niemals aus dem Bereich der Bakterien herauskamen. Der Versuch wurde verschiedene Male wiederholt, aber nicht einmal trat der Fall ein, daß die Alge sich schneller ausbreitete als die Bakterien. Die für schnellwachsende Oscillarien brauchbare Methode mußte also schließlich aufgegeben werden.

Noch einmal, wie bei der Isolierung der Arten, wurde dann der Versuch angestellt, durch Plattenguß in drei Verdünnungen möglichst eine Spore zu isolieren. Um die anhaftenden Bakterien etwas zurückzudrängen, wurde die Temperatur gesteigert, in der der Agar gegossen wurde. Man durfte annehmen, daß die dicke Membran der Dauerzelle wenigstens kurze Zeit hindurch die höhere Temperatur vertragen könnte. Folgende Variationen beim Plattenguß kamen daher zur Verwendung:

1. Plattenguß bei 100° (eingetrocknetes Material)
2. „ „ 100° (nasses Material)
3. „ „ 70° „ „
4. „ „ 40° „ „

Zwei Versuchsreihen liefen parallel, einmal enthielt der Agar Heyden-Nährstoff, das andere Mal eine anorganische Nährlösung. Trockenes Material wurde nur bei 100° angewandt, da bei einer niedrigeren Temperatur ja überhaupt keine Aussicht vorhanden war, die Bakteriensporen zurückzudrängen. Der ganze Versuch scheiterte jedoch wieder an der Unmöglichkeit, die Sporen im Agar zum Keimen zu bringen. Bakterien traten zwar bei den Plattengüssen bei 100° nicht so häufig auf, jedoch keimten die Sporen nicht. Abgetötet waren sie durch den kurzen Aufenthalt in Agar von 100° nicht, wie der folgende, letzte Versuch zur Erzielung absoluter Reinkulturen zeigt.

Man konnte annehmen, daß die Sporen kurze Zeit auch in Flüssigkeit die Temperatur des kochenden Wassers vertragen. Es war zu hoffen, daß, wenn eine Kultur mit frisch geimpften Sporen ganz kurze Zeit sterilisiert und dann einige Tage stehen gelassen blieb, die Bakteriensporen auskeimten und beim darauf folgenden abermaligen Sterilisieren getötet würden, während die dickwandigen Algensporen am Leben blieben. Ich brachte also in ein Kölbchen mit 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ + 0,02% K_2HPO_4 + Spur Fe etwas Sporenmaterial und sterilisierte dann zwei Minuten im Dampftopf. Damit die Dauerzellen auch gleich die Temperatur von 100°

annehmen sollten, wurde zuerst die Nährlösung allein erhitzt, dann die Sporen hinzugetan und nochmals zwei Minuten sterilisiert. Dann ließ ich die Kulturen 24 Stunden stehen und erhitzte sie darauf nochmals zwei Minuten im vorgeheizten Dampftopf. Gleichzeitig wurde auch eine Kontrollkultur angesetzt, die nur einmal zwei Minuten sterilisiert war. Die zweimal erhitzten Kulturen wuchsen jedoch gar nicht an, da jedenfalls in den 24 Stunden so viel Feuchtigkeit aufgenommen wurde, daß die Sporen bei der zweiten Sterilisierung getötet wurden. Die Kulturen, die nur einmal auf 100 Grad gebracht waren, wuchsen gut an, die Kontrolle auf Heyden-Agar ergab jedoch nicht weniger Bakterien als vorher. Die Versuche, absolute Reinkulturen zu gewinnen, wurden hierauf aufgegeben. Nach den Ergebnissen mit anorganischen Nährlösungen, die weiter unten angegeben sind, ist auch kaum anzunehmen, daß mit organischen Stoffen eine bessere Ernährung erzielt worden wäre.

III. Morphologie.

a. Beschreibung der gefundenen Arten.

Nach Lemmermanns „Kryptogamenflora“ gehört Cylindrospermum zu der Gruppe der Nostocaceen. Von einem Nostoc oder einer Anabaena ist diese Gattung leicht zu unterscheiden. Während die vegetativen Fäden der beiden erstgenannten Gattungen eine ziemlich große Länge erlangen, bleibt der Faden von Cylindrospermum immer recht kurz. Auch trifft man nie, wie bei Nostoc, Heterocysten oder Grenzzellen im Verlauf der Zellreihe an. Nur die Endzellen eines Fadens sind farblos geworden. Lemmermann nennt diese Gebilde ebenfalls Grenzzellen. Am weitesten weicht jedoch der Bau der Spore von Nostoc ab. Die Differenzierung zwischen vegetativer Zelle und Dauerzelle ist wohl bei Cylindrospermum am weitesten entwickelt. Die dicken, meist gefärbten Membranen, die diese Gebilde umhüllen, unterscheiden sie recht deutlich von den dünnwandigen, die vegetativen Zellen nur wenig übertreffenden Sporen der Nostocarten. Um bei der Bestimmung der einzelnen Arten ganz sicher zu gehen, wurde die Länge und Breite der Spore, sowie sonstige für die Definition der Art wichtige Größen, mindestens zehnmal an beliebig herausgegriffenen Individuen gemessen. Es sollen an dieser Stelle nur die zur Bestimmung gebräuchlichen morphologischen Befunde angegeben werden. Die Sporenkeimung sowie die physiologischen Eigentümlichkeiten werden dann in den nächsten Kapiteln weiteres Material zur Unterscheidung der Arten geben.

A. Cylindrospermum licheniforme (Bory) Kütz.
(Tafel I, 1 u. 2.)

Sowohl rein morphologische Befunde, die verschiedene Größe und Gestalt der Sporen, als auch die Ergebnisse der physiologischen Versuche, auf die weiter unten näher eingegangen wird, bewogen mich, von dieser Art zwei konstante Formen anzunehmen. Die eine fand ich zuerst von allen Arten bei dem Anhäufungsversuch mit Erde aus dem Botanischen Garten. Später gelang es mir auch, im Alpinum des Gartens an einer schattigen, etwas feuchten Stelle natürliche Rasen zu entdecken. Die Alge bildete einen schwärzlichen, vom Erdboden kaum zu unterscheidenden Überzug. Auch in Kulturen strömte sie einen charakteristischen Geruch aus, wie man es bei Oscillarien häufig findet. Die Spore ist bei dieser Art immer in der Einzahl an jedem Faden zu finden. Sie ist einzeln braunrot, doch nahm eine Kultur nach der Sporenreife einen mehr schwarzbraunen Farbenton an. Jeder Spore sitzt an einem Ende eine Grenzzelle auf, da ja die hinter der letzteren gelegene Zelle sich zu einer Spore umbildet. (Näheres im Kapitel III b.) Die vegetativen Zellen, im optischen Querschnitt quadratisch bis rechteckig und an den Querwänden etwas eingeschnürt, ähneln denen eines Nostoc mit Ausnahme der Stellung der Heterocyste. Auch ist die Färbung zarter und von hellerem Grün. Die bei den Messungen gefundenen Werte stimmen mit den Befunden Lemmermanns nicht genau überein, sie kommen ihnen jedoch außerordentlich nahe. Wichtig für den Unterschied von der zweiten Form ist die schwankende Länge der Dauerzellen, sowie ihre Breitenabmessungen, die sich an der unteren Grenze der Lemmermannschen Angaben halten.

Ich nannte die soeben beschriebene Form Cylindrospermum licheniforme forma typica. (Tafel I, 1.)

Die zweite Form gewann ich, wie aus den Protokollen über die Anhäufungsversuche zu sehen ist, aus Gartenerde aus Naumburg. Herr Dr. Lemmermann, der die Liebenswürdigkeit besaß, sämtliche von mir untersuchten Arten zu begutachten, nannte diese Form ebenfalls C. licheniforme, gab aber zu, daß die Abmessungen andere wären, als bei der zuerst gefundenen Alge. Bei Kulturversuchen fiel mir nun auf, daß sich die Nährlösung nach der Sporenreife regelmäßig intensiv rot-violett färbte, es mußte sich also ein Teil des Farbstoffes aus der Sporenhaut gelöst haben. Bei forma typica konnte ich diese Färbung niemals beobachten. Die Form der Spore war gedrungener und breiter, ihre Färbung bräunlich rot, aber viel dunkler als bei forma typica. Die Abmessungen der beiden Formen sollen, da sie nicht genau übereinstimmen, hier in Tabellenform nebeneinander-

gestellt werden. Nach Herrn Dr. Lemmermann, der zur Zeit wohl die Autorität für Cyanophyceenfloristik ist und mich so freundlich unterstützte, nenne ich die zweite Form Cylindrospermum licheniforme forma Lemmermanni (Tafel I, 2).

	Eigene Mess., forma typica	Eigene Mess., forma Lemmerm.	Messungen nach Lemmermann
Länge der Sporen .	24,3 μ bis 39,2 μ	20,4 μ bis 24,8 μ	20 μ bis 38 μ
Breite der Sporen .	10 μ bis 13,03 μ	11,9 μ bis 13,3 μ	11 μ bis 14 μ
Länge der Heterocysten	7,1 μ bis 10,03 μ	5,4 μ bis 7,2 μ	7 μ bis 12 μ
Breite der Heterocysten	4,9 μ bis 5,6 μ	3,9 μ bis 4,7 μ	5 μ bis 6 μ
Länge der vegetativen Zelle . . .	3,9 μ bis 6,5 μ	3,7 μ bis 5,1 μ	4 μ bis 5 μ
Breite der vegetativen Zelle . . .	3,9 μ bis 4,8 μ	3,4 μ bis 3,6 μ	2,5 μ bis 4,2 μ

Außer der verschiedenen Größe der Spore und der Heterocyste fiel mir bei forma Lemmermanni noch eine weitere Eigentümlichkeit auf. Es kam nämlich, wenn auch sehr selten, vor, daß die Sporen dieser Form zu zweien hintereinander angereiht waren, was bei form. typica nicht einziges Mal beobachtet werden konnte, obwohl danach gesucht wurde. Es sei zum Schluß noch hinzugefügt, daß der Geruch der forma Lemmermanni bei weitem nicht so intensiv wie bei der zuerst beschriebenen war. Auch bei den übrigen untersuchten Arten trat er nur ganz schwach auf. Die angegebenen morphologischen Unterschiede, vereint mit Verschiedenheiten bei der Keimung, sowie die Differenzen physiologischer Art werden die Trennung in zwei konstante Formen rechtfertigen.

B. Cylindrospermum muscicola Kütz. (Tafel I, 3.)

Eine von den beiden soeben beschriebenen Arten ganz und gar verschiedene war die, welche ich aus Anhäufungskulturen aus Könnern und dem Harz erhielt. Schon makroskopisch war ein großer Unterschied zu bemerken. Wie die Alge an einem natürlichen Standort aussieht, kann ich nicht entscheiden, da ich sie nur aus den Anhäufungen kenne. In den Kulturgläsern bildete diese Art dicke Klumpen von gelblicher Farbe. Die Sporen sind ziemlich klein und gedrungen, im reifen Zustand ist ihre Farbe lebhaft goldgelb bis goldbraun. Sie treten an jedem Faden nur in der Einzahl auf, da die Alge jedoch sehr üppig wächst und dicke Polster bildet, sind nach der Reife in einer Kultur große Mengen von Sporen zu finden. Die

Außenschicht der Dauerzelle ist wie bei den beiden vorhergehenden Arten vollständig glatt. Die Abmessungen sind folgende:

	Eigene Messungen	Messungen nach Lemmermann
Länge der Sporen	12,7 μ bis 20,4 μ	10 μ bis 20 μ
Breite der Sporen	8,5 μ bis 10,2 μ	9 μ bis 12 μ
Länge der Heterocyste	6,1 μ bis 10,3 μ	5 μ bis 7 μ
Breite der Heterocyste	3,6 μ bis 4,5 μ	4 μ
Länge der vegetativen Zellen .	4,7 μ bis 5,4 μ	4 μ bis 5 μ
Breite der vegetativen Zellen .	3,0 μ bis 3,4 μ	3 μ bis 4,7 μ

Die vegetativen Fäden sind länger als wie bei C. licheniforme, auch sind die Zellen an den Querwänden nicht so eingeschnürt. Ihre Farbe ist noch heller als bei den vorigen Arten. Weitere Artmerkmale werden sich gleichfalls aus den Resultaten der Sporenkeimung sowie aus den Wachstumserfolgen in verschiedenen Nährlösungen ergeben.

C. Cylindrospermum minutissimum Collins. (Tafel I, 4.)

Das Aussehen dieser Art an ihrem natürlichen Standort ist in den Protokollen eingehend beschrieben. Die Sporen, mit glatter, farbloser, nur manchmal etwas ins gelbgrüne schimmernder Außenschicht sind häufig zu zweien hintereinander angeordnet. Man sieht dies nicht gleich auf den ersten Blick, weil die Dauerzellen nach vollendeter Reife die Verbindung mit dem vegetativen Faden lösen. Sonst genügt auch schon der Druck des aufgelegten Deckglases, um die Sporen durcheinander zu werfen. In Kulturen zeigte sich diese Art außerordentlich empfindlich, vor allem gegen zu starke Belichtung. Die Abmessungen sind folgende:

	Eigene Messungen	Messungen nach Lemmermann
Länge der Spore	17 μ bis 22 μ	12 μ bis 25 μ
Breite der Spore	8,5 μ bis 10,2 μ	7 μ bis 9 μ
Länge der Heterocyste	4,1 μ bis 5,9 μ	6 μ bis 8 μ
Breite der Heterocyste	3,4 μ bis 5,1 μ	4 μ
Länge der vegetativen Zelle . .	3,4 μ bis 5,2 μ	4 μ bis 5 μ
Breite der vegetativen Zelle . .	3,2 μ bis 3,7 μ	2 μ bis 2,7 μ

Die Form der Sporen entspricht dem Namen Cylindrospermum eigentlich wenig, sie ist länglich elliptisch bis rautenförmig. Über sonstige Artmerkmale gilt das Gleiche wie bei den vorhergehenden Spezies.

D. Cylindrospermum catenatum Ralfs. (Tafel I, 5.)

Die Anhäufungsversuche mit Naumburger Gartenerde lieferten auch diese Art. Die glatten, länglichen, grüngelben Sporen liegen reihenweise, meist je drei, hintereinander. Für Messungen darf man nur die älteste, d. h. die äußerste Spore verwenden, die beiden folgenden sind jünger, daher auch meist noch grün und kleiner. Nach vollendeter Sporenreife fällt die Kette auseinander und die Sporen liegen einzeln. In Kulturen ähnelt diese Art sehr der C. muscicola; die Farbe ist ebenfalls geblich und wie diese hat sie in Erlenmeyerkölbchen häufig das Bestreben, sich zu Klumpen und Kugeln zu verfilzen. Auch die Farbe der vegetativen Fäden sowie ihre verhältnismäßig große Länge erinnert an erstere Art. Die Gewinnung dieser Alge bereitete zuerst einige Schwierigkeiten, da nur sehr wenig Material in den Anhäufungskulturen vorhanden war. Das gute Wachstum auf Petrischalen mit Kieselgallerte verschaffte mir aber eine große Anzahl üppiger Rasen. Folgende Maße wurden festgestellt:

	Eigene Messungen	Messungen nach Lemmermann
Länge der Sporen	13 μ bis 19 μ	13 μ bis 18 μ
Breite der Sporen	8,5 μ bis 12,2 μ	7 μ bis 10 μ
Länge der Heterocysten	5,4 μ bis 7,1 μ	6 μ bis 7 μ
Breite der Heterocysten	4 μ bis 5,1 μ	4 μ
Länge der vegetativen Zelle . .	3 μ bis 5 μ	4 μ bis 5 μ
Breite der vegetativen Zelle . .	3 μ bis 3,5 μ	4 μ

Lemmermann gibt ferner an, die Farbe der Spore wäre goldgelb, während die von mir untersuchten Dauerzellen nur gelblichgrün waren. Es handelt sich demnach wohl um eine heller gefärbte Rasse von C. catenatum.

E. Cylindrospermum majus Kütz. (Tafel I, 6.)

Während sämtliche bisher beschriebenen Arten eine glatte Außenschicht der Spore besaßen, fand sich in den Naumburger Anhäufungskulturen eine Art mit papillöser Außenschicht. Diese Eigenschaft wurde nicht sofort erkannt, weil sich die Papillen erst ganz zum Schluß des Sporenreifungsprozesses bilden. Ich glaubte daher zuerst eine neue Art gefunden zu haben; nachdem aber meine Kulturen das genügende Alter von ungefähr zwei Monaten erreicht hatten, wurde dieser Irrtum erkannt. Die einzeln liegenden, sehr großen Sporen hatten nunmehr eine tiefbraune Farbe angenommen, und im optischen Durchschnitt konnte man erkennen, daß der Außenschicht kleine

papillenartige Erhebungen aufgesetzt waren. Interessant für diese Art ist es auch, daß die Außenschicht durch Drücken und Bewegen des Deckglases leicht von der darunterliegenden, farblosen Schicht getrennt werden konnte, was bei den übrigen Spezies nicht oder doch nur sehr schwer gelang. Diese Schicht muß also aus einem sehr spröden Material bestehen. Kalkeinlagerungen enthält sie jedoch nicht. Charakteristisch war ferner das außerordentlich langsame Wachstum, sowohl auf Kieselgallerte, als auch in Flüssigkeit. Folgende Messungen wurden vorgenommen:

	Eigene Messungen	Messungen nach Lemmermann
Länge der Sporen	28 μ bis 37,3 μ	20 μ bis 38 μ
Breite der Spore	12,3 μ bis 15,4 μ	10 μ bis 15 μ
Länge der Heterocyste	6,8 μ bis 8,9 μ	bis 10 μ
Breite der Heterocyste	5,3 μ bis 6,1 μ	nicht angegeben
Länge der vegetativen Zelle . .	3 μ bis 5,4 μ	3 μ bis 6 μ
Breite der vegetativen Zelle . .	3,4 μ bis 4,8 μ	3 μ bis 5 μ

Für diese Art ist auch wieder die Keimung sehr charakteristisch.

b. Die Entstehung und Keimung der Spore.

Der vegetative Faden eines Cylindrospermum hat an seinen Enden, aber auch nur dort, nie in der Mitte des Fadens, wie bei Nostoc, Heterocysten. Der Zweck dieses Gebildes ist für Nostoc wohl ziemlich klar. An den Stellen, wo die Heterocyste nämlich die Zellreihe unterbricht, fällt der Faden auseinander. Die Teilstücke wachsen dann wieder heran, und man kann überall in üppig wachsenden Kulturen die herumliegenden Heterocysten des alten Fadens sehen. Ganz anders verhält sich jedoch die Sache bei Cylindrospermum. Die kegelförmigen Endzellen des jungen Fadens werden farblos und werden zur Heterocyste. Der Faden bricht bei der Vermehrung an einer beliebigen nicht präformierten Stelle durch. In den Teilstücken werden dann wieder die an die Bruchstelle angrenzenden Zellen zu Heterocysten umgebildet. Man nennt diese Gebilde wohl am einfachsten mit Lemmermann Grenzzellen. Es gelang mir nicht, irgend einen Zweck, den diese Zellen haben könnten, herauszufinden. Da sie nach der Reife der Sporen auf letzteren sitzen bleiben, so glaubte ich, daß sie für die Richtung, nach welcher die Dauerzelle auskeimt, von irgend welcher Bedeutung sein könnten. Nun keimt die Spore aber nur bei C. licheniforme und C. majus nach den Enden zu aus; dazu ergaben genauere Beobachtungen, daß dies ganz regellos bald nach dem Ende, dem die Grenz-

zelle aufsitzt, bald nach dem anderen hin geschieht. Die Lage der Grenzzelle übt darauf offensichtlich gar keinen Einfluß aus.

Die Entstehung der Spore ist sehr einfach. Die beginnende Sporenbildung macht sich zuerst dadurch bemerkbar, daß die hinter der Grenzzelle gelegene vegetative Zelle bedeutend an Länge zunimmt. Erst nachdem sie das drei- bis vierfache der ursprünglichen Länge erreicht hat, beginnt sie auch in die Dicke zu wachsen und die Gestalt, die für die Spore charakteristisch ist, anzunehmen.

Bei Gelegenheit der Sporenkeimungsversuche machte ich nun folgende Bemerkung. Auch in einer Kultur, die schon reife Sporen enthält, findet man, wie auf Kieselgallerte gut zu beobachten ist, häufig ganz junge, eben im Entstehen begriffene Sporen, wie sie oben beschrieben wurden. Auf diese Kulturen wurde nun, um die Keimung zu veranlassen, frische Nährlösung gegossen. Dann konnte man beobachten, daß diese jungen Sporen in der frischen Lösung sich nicht etwa weiter entwickeln, sondern wieder zu vegetativen Zellen zurückgebildet wurden. Die junge Dauerzelle, die doch immerhin schon dicker war als der übrige Faden, bekam Querwände, gewöhnlich gleich drei bis vier. Durch weiteres Wachstum wurde dann auch die Dicke dieser Zellen wieder auf das Normalmaß reduziert. Unterbrach man das Wachstum jedoch nicht derartig, so nahm die Spore immer mehr an Größe zu und ihre Haut gliederte sich in mehrere Schichten. Erst nach Abschluß des Wachstums bildete sich dann in der Außenhaut der charakteristische Farbstoff, der, wie schon erwähnt, bei C. licheniforme forma Lemmermanni die eigentümliche Eigenschaft hat, sich teilweise im Wasser zu lösen. Daß es sich nur um geringe Mengen handeln kann, die gelöst werden, geht wohl daraus hervor, daß die Sporen noch tiefbraun aussehen, wenn sie monatelang im Wasser gelegen haben.

Von der chemischen Beschaffenheit der Sporenhaut kann ich nur aussagen, daß sie in Kalilauge verquillt und sich in konzentrierter Schwefelsäure teilweise löst. Ich untersuchte die Haut auf Cellulose, Cutin, Chitin und Eiweiß, aber niemals gelang es mir, eine einwandfreie Reaktion, wie ich sie mit Kontrollmaterial erhielt, zu erzielen. (Die Reaktionen wurden gemacht nach den Tabellen von Behrens. Verz. 1.) Eines konnte ich jedoch mit großer Bestimmtheit feststellen. Chitin, das ja nach den Arbeiten von F. G. Kohl (Verz. 4) und R. Hegler (Verz. 3) bei Cyanophyceen verbreitet sein soll, ist in der Haut von Cylindrospermum nicht enthalten. Weder in den Membranen der Spore noch in der Haut der vegetativen Zelle. Als Nachweis benutzte ich die sehr deutliche Chitosanreaktion. (Wester, Studien über das Chitin. Verz. 14.) Kleine Glasröhrchen von 10 cm Länge wurden mit sechzigprozentiger Kalilauge fast ganz gefüllt. Dann wurde teils

Cylindrospermummaterial, teils zur Kontrolle Insektenflügel und Pilzsubstanz hinzugefügt. Darauf wurden die Glasröhrchen zugeschmolzen und im Ölbade langsam und gleichmäßig auf 160° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die Algensubstanz sowie die Kontrollproben solange mit Alkohol ausgewaschen, bis keine basische Reaktion mehr eintrat, und dann langsam in Wasser überführt. Die Algen mußten zu diesem Zwecke zentrifugiert werden, da sie durch die Behandlung mit heißer Kalilauge stark zersetzt worden waren. Man konnte jedoch unter dem Mikroskop die Strukturen der Sporen noch gut erkennen. Mit Jod und schwacher Schwefelsäure trat dann bei der tierischen Substanz eine lebhafte, bei den Pilzen eine nur schwache Violettfärbung ein, ein Zeichen, daß sich das in ihnen befindliche Chitin in Chitosan umgesetzt hatte. Die Algen blieben trotz wiederholt angestellter Versuche, auch mit konzentrierter Schwefelsäure, die auch die geringsten Spuren von Chitosan anzeigen muß, ungefärbt. Ich führte dieses Experiment aus für C. licheniforme forma typica und C. muscicola. Die Gattung Cylindrospermum enthält also wohl sicher kein Chitin.

Erfolgreicher als diese mikrochemischen Untersuchungen waren die Versuche, die ich zur Beobachtung der Sporenkeimung anstellte. Zuerst bereitete freilich die Methodik recht erhebliche Schwierigkeiten. Am geeignetsten für die Beobachtung des Vorganges erschienen mir zunächst Deckglaskulturen mit Hängetropfen. Diese ersten Versuche wurden nur mit C. licheniforme form. typ. ausgeführt. Da meine physiologischen Untersuchungen zu dieser Zeit noch nicht weit genug gediehen waren, um zu wissen, welche Nährlösungen für die Keimung die vorteilhaftesten waren, so setzte ich eine größere Anzahl von Kulturen mit verschiedenen Salzen in mehreren Konzentrationen an. Unter ihnen befand sich auch die, welche sich später als geeignet erwies.

Die ganze Versuchsanordnung krankte freilich an all den Unzulänglichkeiten, die schon in der Methodik angeführt wurden. Meist lagen auch die geimpften Sporen so dicht, daß man keine Einzelheiten erkennen konnte. Dann war der Hängetropfen oft so groß, daß man mit starker Vergrößerung nicht an das zu beobachtende Objekt herangelangen konnte, oder er war zu klein, so daß er eintrocknete. Diese Kulturen wurden jedoch nicht weniger als fünfmal wiederholt, es wurde schließlich auch ein Ansatz zur Keimung beobachtet. Die Spore platzte auf, und der Inhalt schlüpfte heraus, veränderte sich jedoch nicht weiter. Der ganze Vorgang machte einen recht krankhaften Eindruck.

Die Beobachtung der Keimung gelang endlich gut mit Hilfe der alten Kieselgallertekulturen. Wenn die Sporen in denselben reif geworden waren, dann starben die vegetativen Zellen, wenigstens bei

C. minutissimum, C. licheniforme und C. majus, meistens ab, sei es, weil sie Stoffe an die Sporen abgegeben hatten, sei es, weil die Nährlösungen erschöpft waren. In den zu dieser Zeit nur vorhandenen Kulturen auf Kieselsäure mit Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 trat dieser Zustand nach ungefähr zwei Monaten ein. Wenn man eine solche Petrischale dann durchsah, konnte man die Sporen einzeln deutlich unterscheiden. Es kam nun darauf an, diesen Dauerzellen eine neue Nährlösung zu geben, und zwar eine solche, die das vegetative Wachstum beförderte. Die physiologischen Untersuchungen waren zu dieser Zeit so weit fortgeschritten, daß eine gute Nährlösung für jede Art bekannt war. Diese Lösung wurde also jedesmal angesetzt, in einem Erlenmeyerkolben sterilisiert und dann auf die nur wenig geöffnete Petrischale gegossen. Sie wurde dann 24 Stunden auf der Kieselgallerte belassen und darauf vorsichtig wieder abgegossen. In dieser Zeit waren die in der Lösung enthaltenen Salze in die Gallertschicht hineindiffundiert. Irgend welche Infektion trat bei all diesen Prozeduren nicht ein, wenn man keine Vorsichtsmaßregel außer acht ließ.

Mit Hilfe dieses Verfahrens gelang es, bei allen Arten, mit Ausnahme von C. licheniforme form. Lemm., die Keimung zu beobachten. Für C. muscicola und C. catenatum mußte der Versuch freilich etwas anders angeordnet werden. Diese beiden Arten bildeten, wie schon erwähnt wurde, in Petrischalen dicke Polster. Auch starben die vegetativen Fäden nicht ab. Es wurde daher von den Rasen einfach ein kleines Stückchen auf eine andere Petrischale mit optimaler Nährlösung in Kieselgallerte übergeimpft. Dann trat die Keimung sofort ein. Nur C. licheniforme form. Lemm. war auf diese Weise gar nicht zum Keimen zu bringen, ein deutlicher Unterschied von form. typica, wo dies leicht gelang. Von jener Art wurde schließlich eine größere Anzahl von Erlenmeyerkulturen mit trockenen Sporen angesetzt. Die Dauerzellen mußten dann mit der Pipette herausgenommen werden, um sie mikroskopisch beobachten zu können.

Da die vegetativen Fäden zuerst bei C. minutissimum zerfielen, so war diese Art auch die erste, bei der die Beobachtung der Keimung gelang. Ich durchsuchte die Petrischale von der Rückseite mit schwacher Vergrößerung. Nachdem ich mich dann überzeugt hatte, daß die Sporen im Keimen begriffen waren, wurde die Kultur geöffnet. Meist haftete der Kieselgallerte oberflächlich noch Feuchtigkeit an von der darübergegossenen und nachträglich wieder entfernten Nährlösung, so daß man auf die vorher von außen bezeichnete Stelle ein Deckglas legen konnte. Mit Immersion konnte dann in der offenen Petrischale die Keimung in ihren einzelnen Phasen verfolgt werden. Das Auflegen des Deckglases schadete den Sporen gar nicht, der Vorgang lief ruhig weiter.

Protokoll zur Keimung von C. minutissimum: Am 23. X. 12 wurde auf eine alte Kieselgallertekultur frische Nährlösung (0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Spur Fe) aufgegossen und nach 24 Stunden wieder entfernt. Am 21. XI. 12 wurde mit schwacher Vergrößerung eine große Anzahl von Sporen beobachtet, die in Keimung begriffen waren. Am 22. XI. und am 23. XI. konnten durch das aufgelegte Deckglas mit Immersion alle Stadien der Keimung beobachtet und mit dem Zeichenapparat festgehalten werden.

Der Inhalt der Spore hellt sich zunächst auf und schnürt sich in der Mitte unter Bildung einer Querwand ein. (Tafel II, 1a.) Darauf zerreißt unter neuer Querwandbildung die Sporenhaut, meist auf einer Seite. (Taf. II, 1b.) Die Haut klappt nun auseinander und der junge Faden, der inzwischen noch eine Querwand gebildet hat, schiebt sich heraus. (Tafel II, 1c und d.) Der Faden besitzt noch die Dicke der Spore und wird erst ganz allmählich auf die normalen Abmessungen der vegetativen Fäden reduziert. Man kann dabei beobachten, daß die junge Zellreihe in der Mitte am dicksten ist und sich nach beiden Seiten hin verjüngt. (Taf. II, 1e u. f.) Im Laufe immer neuer Teilungen verwischt sich dann der Dickenunterschied ganz allmählich. Der Faden kriecht vollkommen aus der Sporenhaut heraus und die beiden Endzellen, die schon vorher kegelförmige Gestalt hatten, werden farblos und zu Heterocysten. Jedes einzelne Stadium, wie es auf den Zeichnungen zu sehen ist, wurde natürlich in großer Zahl beobachtet. Durch Markierung konnte festgestellt werden, daß die einzelnen Entwicklungsstufen in der angegebenen Reihenfolge auftraten. Die ganze Petrischale, die vorher, nach der Sporenreife, durch das Absterben der vegetativen Zellen gelblich geworden war, erhielt nach der Keimung ihre gesunde, blaugrüne Farbe zurück.

Dieselbe Methode wurde zunächst bei Cylindrospermum licheniforme form. typ. wiederholt. Einige Einzelheiten mögen hier aus den Protokollen angegeben werden: Am 27. XI. 12 wurden folgende Petrischalen, die ursprünglich Kieselgallerte mit Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 enthalten hatten, mit geeigneter Nährlösung (0,1% $Ca(NO_3)_2$ etc.) beschickt: Nr. 35 vom 1. VII. 12; Nr. 75 vom 31. VII. 12 und Nr. 102 vom 26. VIII. 12. Am 2. XII. 12 waren in Nr. 102 die ersten Stadien zu sehen. Am 8. XII. 12 konnten in allen Schalen reichliche Mengen keimender Sporen beobachtet werden.

Der Verlauf des Prozesses unterscheidet sich in seinen Einzelheiten von C. minutissimum. Wenn die rötlich-braun gefärbte Spore sich zur Keimung anschickt, wird jedesmal das eine Ende hell-blaugrün gefärbt. (Tafel II, 2a.) Auf der Seite, wo dies der Fall ist, wird dann die Sporenwand durchbrochen. Fig. 2b, 2c, Tafel II

illustrieren gleichzeitig, was schon weiter oben gesagt war, nämlich, daß die Heterocyste nicht auf die Richtung der Keimung einwirkt. Die Hüllen der Dauerzelle platzen an dem kurzen Ende auf, werden zurückgeklappt (Tafel II, 2b), manchmal aber auch in Bruchstücken von der Spitze des jungen Fadens fortgeschoben. (Tafel II, 2c.) Der Inhalt der Spore wächst schlauchartig aus der Umhüllung heraus, ohne daß zunächst eine Querwand gebildet wird. Dann werden auf einmal, nachdem der Faden um die halbe Länge der Spore herausgewachsen ist, gleich drei bis vier Querwände gebildet. (Tafel II, 2d.) Schon bei den soeben beschriebenen Vorgängen wird die Dicke des Fadens reduziert, das geht nun weiter unter fortwährenden Neubildungen von Querwänden. (Tafel II, 2e.) Der junge Faden ist jedoch immer an allen Punkten von ungefähr der gleichen Dicke, er verjüngt sich nicht nach den Enden zu, wie bei C. minutissimum. Die weitere Entwicklung verläuft dann ganz analog der zuerst beschriebenen Art. Es konnte noch festgestellt werden, daß auch nicht vollkommen reife Sporen auskeimten. Ich beobachtete diese Tatsache dann auch bei allen Spezies. Wenn die Dauerzellen jedoch noch sehr jung waren, dann verließ ihr Inhalt nicht die Haut, sondern bildete sich mit derselben, wie zu Beginn des Kapitels beschrieben wurde, zu vegetativen Zellen um.

Ähnlich, wie bei der soeben beschriebenen Art, verlief die Keimung bei C. majus. Die Methode war genau dieselbe; alte Petrischalen wurden mit der geeignetsten Nährlösung, in diesem Falle 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe, versehen, worauf die Sporen nach einiger Zeit auskeimten. Am 12. VIII. 13 wurde der Versuch angesetzt, schon am 18. VIII. konnten die ersten Stadien beobachtet werden. Am 19. VIII. wurden dann die Einzelheiten mit dem Zeichenapparat festgehalten. Wie bei C. licheniforme form. typ. wird die dunkel gefärbte, sehr derbschalige Spore an einem Ende aufgehellt. (Tafel II, 3a.) An dieser Stelle tritt dann der Keimling heraus. Oft wird dabei die ganze Hülle, die wohl sehr spröde sein muß, in Fetzen zerrissen. (Tafel II, 3b.) Der junge Faden teilt sich dann in eine Anzahl von Zellen und reduziert ganz allmählich seine Dicke auf das Normalmaß. (Tafel II, 3c, d.) Das eine Ende des jungen Fadens bleibt oft sehr lange in der leeren Schale stecken.

Bei der nächsten Art, Cylindrospermum muscicola, sowie bei C. catenatum mußte, wie schon erwähnt, auf neue Kieselgallerteplatten übergeimpft werden. Der Rasen wurde vorher auf einer Glasplatte dermaßen auseinander gezupft, daß das geimpfte Stück sich gut ausbreitete und durchsichtig wurde. Am 22. I. 13 hatte ich derartige Kulturen angesetzt. Die ersten Ansätze zur Keimung konnten

dann am 5. II. 13 bemerkt werden. Am 7. II. 13 war ein großer Teil der Sporen im Keimen begriffen, alle Stadien konnten gezeichnet werden. Die Sporenwand reißt bei dieser Art bald an der Seite, (Tafel II, 4b, 4d) bald an einem Ende auf. (Tafel II, 4a, 4c.) Wie bei C. licheniforme form. typ. tritt aber eine Querwandbildung erst sehr spät auf, nachdem der Inhalt der Dauerzelle schlauchförmig aus der Schale herausgewachsen ist. (Tafel II, 4c, 4d.) Bemerkenswert ist noch, daß der junge Faden (Tafel II, 4g) sich oft schon nach wenigen Teilungen gänzlich aus der Sporenhaut befreit. Er reduziert dann seine Dicke ebenfalls ganz allmählich und gleichmäßig. (Tafel II, 4d, 4e, 4f.)

Cylindrospermum catenatum gleicht der soeben beschriebenen Art auch im Keimungsvorgang sehr. Die Schale wird nur nach der Seite durchbrochen. Der Inhalt der Spore wächst zuerst schlauchförmig heraus, besser gesagt, er kriecht heraus (Tafel II, 5a, 5b, 5c) und teilt sich dann in eine Anzahl von Zellen. (Tafel II, 5d.) Manchmal verläßt er die Hüllen schon vor der Querwandbildung vollständig (Tafel II, 5c.) In anderen Fällen konnte ich jedoch auch beobachten, daß er sehr lange mit dem einen Ende in der leeren Schale hängen blieb. (Tafel II, 5e.) Die Versuche mit dieser Alge wurden angesetzt am 12. VIII. 13. Am 18. VIII. begann die Keimung, am 19. VIII. 13 wurden sämtliche Stadien gesehen.

Die größte Schwierigkeit verursachte Cylindrospermum licheniforme form. Lemmermanni. Bei dieser Form versagten sämtliche bisher angewandten Methoden. Während forma typica durch Aufgießen von geeigneter Nährlösung sofort veranlaßt wurde, in den vegetativen Zustand überzugehen, blieb forma Lemm. dadurch vollkommen unverändert, obwohl sehr gute, ausgereifte Kulturen zu den Versuchen benutzt wurden. Es gelang schließlich doch, die Keimung zu beobachten, wenn ich, wie zu Anfang dieses Kapitels beschrieben, die Sporen in Nährlösung brachte. Die Art der Keimung gleicht der bei form. typ. beobachteten. Die Spore hellt sich ebenfalls an einem Ende auf (Tafel II, 6a), der Inhalt schiebt sich ein wenig heraus (Tafel II, 6b), und darauf setzt die Querwandbildung ein. (Tafel II, 6c, d.) Es ist noch zu bemerken, daß diese Art nur sehr schlecht keimt. Der größte Teil der Dauerzellen bleibt vollkommen unverändert, und nur mit großer Mühe kann man die einzelnen Stadien verfolgen. Der Versuch wurde angesetzt am 18. X. 13. Erst am 10. u. 11. XI. konnten einige Keimungen beobachtet werden.

Zum Schluß sollen die Resultate der Sporenkeimung, wie Art und Weise der Keimung, die Zeit, die zwischen dem Aufgießen der frischen Nährlösung und dem Auskeimen verstreicht und andere charakteristische Daten in einer Tabelle zusammengestellt werden.

Untersuchte Arten	Zeit, die verstrich zwischen Ansetzung des Versuchs und Keimung	Nährlösung, in der die Keimung erfolgte	Sonstige Bemerkungen
Cylindrospermum licheniforme form. typ.	5 bis 6 Tage	0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	Die Spore keimt nach dem kurzen Ende zu aus. Querwandbildung erst sehr spät.
Cylindrospermum licheniforme form. Lemmerm.	23 bis 24 Tage	0,05% $Ca(NO_3)_2$ etc.	Die Spore keimt nach dem kurzen Ende zu aus. Die Art keimt sehr schlecht.
Cylindrospermum majus	6 bis 7 Tage	0,05% $Ca(NO_3)_2$ etc.	Die Spore keimt nach dem kurzen Ende zu aus. Die Haut ist sehr spröde.
Cylindrospermum minutissimum	30 bis 32 Tage	0,1% $Ca(NO_3)_2$ etc.	Die Sporen keimen nicht gleichartig aus. Der junge Faden ist nach den Enden zu verjüngt.
Cylindrospermum muscicola	15 bis 16 Tage	0,01% $Ca(NO_3)_2$ etc.	Die Sporen keimen nicht gleichartig aus. Querwandbildung erst sehr spät.
Cylindrospermum catenatum	6 bis 7 Tage	0,01% $Ca(NO_3)_2$ etc.	Die Spore keimt nur nach den Seiten zu aus. Der Keimling verläßt manchmal schon sehr früh die Hülle.

IV. Physiologie.

a. Ermittlung geeigneter Wachstumsbedingungen.

Nachdem die einzelnen Arten speziesrein gewonnen waren und sämtlich in üppigen Kulturen (Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 + Spur Erdabkochung) vorlagen, mußten die Ernährungsbedingungen eingehend untersucht werden. Es war also die Aufgabe gestellt, herauszufinden, welche Salzgemische die geeignetsten sind. Da es nicht feststand, ob der Stickstoff der Luft verwendbar ist, so mußten die einzelnen Stickstoffsalze durchprobiert werden.

Als geeigneter Nährboden hatten sich Gipsblöcke sowie Tonplatten ergeben. Die Algen breiteten sich auf diesen Substraten gut aus und machten einen sauberen Eindruck. Daher wurde der erste Versuch mit den verschiedenen Stickstoffsalzen in Deckelschalen mit Gipsblöcken angestellt. Es kamen zur Verwendung Kaliumnitrat, Kaliumnitrit, Ammoniumsulfat, Ammoniumphosphat, Ammoniummagnesiumphosphat und Kalziumnitrat. Um die Wirkung dieser verschiedenen Salze mit derjenigen der in den Anhäufungskulturen gebotenen Stick-

stoffspuren zu vergleichen, wurde gleichzeitig eine Kultur mit Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 + Spur Erdabkochung angesetzt.

Je zwei Schalen wurden also ungefähr 1 cm hoch gefüllt mit:

0,05% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ + Sp. Fe.

0,05% KNO_2 + 0,02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ + Sp. Fe.

0,05% $(NH_4)_2SO_4$ + 0,02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ + Sp. Fe.

0,05% $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 0,02% K_2HPO + Sp. $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ + Sp. Fe.

Spur NH_4MgPO_4 + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ + Sp. Fe.

0,01% $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ + 0,02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe.

Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 + Spur Erdabkochung.

In der Folge werden die Kristallwassermengen nicht jedesmal wieder mit verzeichnet werden.

Am 31. VII. wurde dieser Versuch mit C. licheniforme form. typ. angesetzt. Das Resultat war folgendes:

Angesetzt am 31. VII. 12	am 17. VIII.	am 2. IX.
1) 0,05% KNO_3 etc.	Gutes Wachstum, aber sehr dünner Rasen	Gutes Wachstum, etwas braun (Sporen).
2) 0,05% KNO_2 etc.	Die Fäden sind ausgebreitet, aber nicht gewachsen	Nicht gewachsen.
3) 0,05% $(NH_4)_2SO_4$ etc.	Geringes, aber gesundes Wachstum	Geringes Wachstum, grün, Sporen noch nicht gebildet.
4) 0,05% $(NH_4)_2HPO_4$ etc.	Sehr gutes Wachstum	Sehr gutes Wachstum, tiefbraun (Sporen).
5) Spur NH_4MgPO_4 etc.	Gutes Wachstum, Rasen sehr dünn	Ganz dünne Schicht geblieben, etwas braun.
6) 0,1% $Ca(NO_3)_2$ etc.	Wachstum wie bei Nr. 4	Sehr gutes Wachstum, noch keine Sporen gebildet.
7) Leitungswasser etc.	Gutes Wachstum, doch geringer als 4 u. 6	Gutes Wachstum, braun (Sporen).

Dieses Protokoll läßt erkennen, daß auf Gipsblöcken mit Ausnahme von KNO_2 jedes N-Salz das Wachstum mehr oder minder fördert. Die gut gewachsenen Kulturen, auch Nr. 6, deren vegetatives Wachstum sehr üppig war, lieferten im Laufe des Winters eine dicke Sporenschicht, wobei sich die Unterschiede, die noch am 2. IX. vorhanden waren, verwischten. Da jedoch der Gips allerhand Fremd-

stoffe enthält, so kann man aus diesem Versuch noch keine Schlüsse über den Verbrauch der gebotenen Salze ziehen. Es wurden daher dieselben Lösungen in Erlenmeyerkolben mit Flüssigkeit noch einmal wiederholt. Die in der Methodik angegebene Reinigung der Kolben und des Wassers sowie die Verwendung von Salzen von Merck und Kahlbaum gilt für alle folgenden Versuche.

Cylindrospermum licheniforme form. typ.

Angesetzt am 14. VIII. 12	Resultat am 25. IX. 12
0,05% KNO_3 etc.	Bleich geworden, kein Wachstum.
0,05% KNO_2 etc.	Bleich geworden, kein Wachstum.
0,05% $(NH_4)_2SO_4$ etc.	Bleich geworden, kein Wachstum.
0,05% $(NH_4)_2HPO_4$ etc. . . .	Noch grün, aber nicht gewachsen.
Spur NH_4MgPO_4 etc.	Bleich geworden, kein Wachstum.
0,1% $Ca(NO_3)_2$ etc.	Sehr gutes Wachstum.
Leitungswasser etc.	Sehr gutes Wachstum, doch geringer als bei 0,1% $Ca(NO_3)_2$ etc.

Die Resultate von E. Pringsheim (Verz. 8), daß Gips ebenso wie Agar und Kieselgallerte die Schädlichkeit eines Salzes vermindert, fand sich also bestätigt. Die Konzentration der Salze, mit Ausnahme von Kalziumnitrat, war, wie sich später zeigte, noch zu hoch.

Es wurden nunmehr eine große Anzahl von Versuchsserien angesetzt, natürlich nur reine Flüssigkeitskulturen in Erlenmeyerkölbchen, die darauf hinzielten, für die verschiedenen Arten die beste Konzentration der einzelnen Stickstoffsalze zu finden.

Die schon angegebenen N-Salze wurden nun der sonst gleichen stickstofffreien Nährlösung zugesetzt, und zwar bei den ersten Serien in folgenden Konzentrationen: 0,5%; 0,1%; 0,05%; 0,01%. Sodann wurde jedesmal auch eine Kontrollkultur gänzlich ohne Stickstoffsalz hinzugefügt. Anfangs kultivierte ich in weiten Reagensröhren, um den Platz an dem Nordfenster, wo die Kulturen an Drähten aufgehängt wurden, möglichst auszunutzen. Es zeigte sich jedoch, daß dadurch kleine Ungenauigkeiten entstehen können. Die Flüssigkeitssäule ist zu hoch, so daß ein zufällig untergesunkenes Impfstück andere Verhältnisse findet als ein an der Oberfläche schwimmendes. Dadurch kann natürlich ein verschiedenes Wachstum entstehen. Es wurden daher vom zweiten Versuch an nur noch Erlenmeyerkölbchen benutzt, in denen auch untergesunkene Fäden gut anwachsen. Um festzustellen, ob sich Cylindrospermum ebenso verhält wie Nostoc, wurden gleichzeitig C. licheniforme form. typ. und Nostoc spec. angesetzt.

Da die Resultate des Reagensglasversuches noch ziemlich verwischt

waren, so kann die Aufzeichnung des Protokolls wohl unterbleiben. Es konnte jedoch schon konstatiert werden, daß die verschiedenen N-Salze von Cylindrospermum erst in der Konzentration von 0,01% vertragen wurden, während Nostoc schon in 0,1% wuchs. Eine Ausnahme bildete wieder Kalziumnitrat, dessen Optimum für Cylindrospermum bei 0,1 Prozent lag. Die Kontrollkulturen mit N-freier Nährlösung zeigten sowohl für Nostoc als auch für C. lich. form. typ. kein Wachstum.

Der zweite Versuch in Erlenmeyerkölbchen zeigte die Ergebnisse mit größerer Genauigkeit. Das Protokoll soll deshalb hier angegeben werden. (0 = nicht gewachsen, + ? = mäßiges, + = gutes, + + = sehr gutes Wachstum.)

Geimpft am 24. X. 12	Nostoc spec. am 5. XII. 12	C. lich. f. typ. am 5. XII. 12
0,5% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,1% KNO_3 + . . . etc.	+	0
0,05% KNO_3 + . . . etc.	+ +	0
0,01% KNO_3 + . . . etc.	+	+, doch wurden niemals Sporen gebildet
0,5% KNO_2 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,1% KNO_2 + . . . etc.	+ ?	0
0,05% KNO_2 + . . . etc.	+	0
0,01% KNO_2 + . . . etc.	+, doch etwas geringer als bei 0,05% KNO_2	+ keine Sporen
0,5% $(NH_4)_2SO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,1% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	+	0
0,05% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	+ +	0
0,01% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	+ ?	+, die Kulturen wurden später braun (Sporen waren gebildet)
0,5% $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,1% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	+	0
0,05% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	+ +	+ ?
0,01% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	+ ?	+ +, Sporen gebildet

Geimpft am 24. X. 12	Nostoc spec. am 5. XII. 12	C. lich. f. typ. am 5. XII. 12
0,5% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	0	0
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+ ?	+ +, besser als in sämtlichen übrigen Kulturen. Reichliche Sporenbildung
0,05% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+ +	+
0,01% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+ ?	+ ?
Kontrolle: N-frei Spur $CaSO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	0	0

Aus diesem Protokoll geht nun folgendes hervor. Die verschiedenen Stickstoffsalze fördern das Wachstum von C. lich. form. typ. mehr oder minder gut, sogar in Kaliumnitrit wuchs die Alge, jedoch sind die meisten nur in der geringen Konzentration von 0,01 Prozent verwendbar. Eine Ausnahmestelle nimmt Kalziumnitrat ein. Bei diesem Salz liegt das Wachstumsoptimum bei 0,1 Prozent. Die Ammonsalze und Kalziumnitrat sind dem Kaliumnitrat sowie dem Kaliumnitrit überlegen, nur bei ersteren beiden reiften bei genügendem Alter der Kulturen die Sporen, wodurch die Algenrasen eine tiefbraune Farbe annahmen. In den beiden letzten Salzen trat diese Färbung nie ein. Eine mikroskopische Untersuchung zeigte, daß Sporen gänzlich fehlten. Nostoc hat durchweg ein höheres Optimum, und zwar ist die günstigste Konzentration für alle Salze 0,05 Prozent. Unterhalb des Optimums nimmt das Wachstum deutlich ab, um bei beiden kultivierten Arten in gänzlich stickstofffreier Nährlösung vollkommen auszubleiben.

Die weitere Aufgabe bestand nun darin, zu untersuchen, wie sich die übrigen zur Verfügung stehenden Cylindrospermumarten in den verschiedenen Nährlösungen verhielten. Die Konzentration 0,5 Prozent konnte ohne Bedenken weggelassen werden, da in ihr nie ein Wachstum zu verzeichnen gewesen war. Im Januar und April 1913 wurden mit Cyl. muscicola und Cyl. minutissimum zwei ähnliche Versuche angestellt. Die gut gewachsenen Kulturen von Serie I wurden nach Abbruch der Untersuchung aufbewahrt und konnten bei der Beurteilung der Serie II zum Vergleich herangezogen werden. Es folgen die Protokolle (die Zeichen sind, wie in allen folgenden, die vereinbarten) (siehe nächste Seite).

Die beiden Arten verhalten sich also den Nährlösungen gegenüber etwas anders, als C. lich. form. typ. Für C. muscicola ist der Unterschied zwischen Kaliumnitrat und Nitrit einerseits und Ammonsalzen sowie Kalziumnitrat anderseits noch deutlicher als in dem früheren

Protokoll zu Serie I.

Angesetzt am 10. I. 13	C. muscicola am 27. II. 13	C. minutissimum am 27. II. 13
0,1% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,05% KNO_3 + . . . etc.	0	0
0,01% KNO_3 + . . . etc.	+ ?	+ ? (sehr geringes Wachstum)
0,1% KNO_2 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,05% KNO_2 + . . . etc.	0	0
0,01% KNO_2 + . . . etc.	0	0
0,1% $(NH_4)_2SO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,05% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	0	0
0,01% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	+	0
0,1% $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,05% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	0	0
0,01% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	+	0
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	+ ?	+ +
0,05% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+ ?	0
0,01% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+ +	0
Kontrolle: N-frei, Sp. $CaSO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	0	0

Versuche. Im Gegensatz zu der zuerst untersuchten Art liegt das Optimum für das letztgenannte Salz hier bei 0,01 Prozent. C. minutissimum ist die empfindlichste von allen untersuchten Arten, sie wuchs in Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4 nicht besonders gut, wirklich üppiges Wachstum zeigte sie erst in 0,1 Prozent Kalziumnitrat, sonst aber auch nirgends.

Der Kontrollversuch mit diesen beiden Arten wurde in etwas abgeänderter Form angestellt. Da in allen Salzen, außer Kalziumnitrat, in 0,1 Prozent kein Wachstum eingetreten war, so konnte diese Stufe weggelassen werden. Es wurde dafür noch eine niedrigere Konzentration von 0,005 Prozent eingeführt. Selbstverständlich blieb für Kalziumnitrat die Konzentrationsstufe 0,1 Prozent bestehen.

Protokoll zu Serie II.

Angesetzt am 12. III. 13	C. muscicola am 3. VI. 13	C. minutissimum am 3. VI. 13
0,05% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,01% KNO_3 + . . . etc.	0, aber grün geblieben	0
0,005% KNO_3 + . . . etc.	0	0
0,05% KNO_2 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0
0,01% KNO_2 + . . . etc.	+ ? nur in einer Kultur	0
0,005% KNO_2 + . . . etc.	0	0
0,05% $(NH_4)_2SO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0, nur in einer Kultur grün geblieben	0
0,01% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	+	0
0,005% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	+ ?	0
0,05% $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	+ ?	0
0,01% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	+	0, nur in einer Kultur + ?
0,005% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	+, doch etwas geringer als bei 0,01%	0
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	0	+ +
0,05% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+	+ ?
0,01% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+ +	+ ?
0,005% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+	0
Kontrolle: N-frei, Sp. $CaSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + Sp. Fe	+, die Kulturen enthielten Pilze	0

In den stickstofffreien Kontrollkulturen wuchs bei diesem Versuch C. muscicola. Da jedoch Pilze in beiden Kölbchen wucherten, wurde die Nährlösung noch einmal frisch angestellt. Geimpft wurde aus der Kultur mit 0,005% Kalziumnitrat. Diesmal blieb das Wachstum vollständig aus.

Eine letzte Serie wurde noch angesetzt, und zwar mit den drei übrigen Arten, C. catenatum, C. majus und C. licheniforme form. Lemm. Zur Verwendung gelangten die Konzentrationen 0,01%; 0,05%; 0,01%.

Protokoll zu Serie III.

Angesetzt am 25. VII. 13	C. catenatum am 15. X. 13	C. majus am 15. X. 13	C. lich. f. Lemm. am 15. X. 13
0,1% KNO_3 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0	0
0,05% KNO_3 + . . . etc.	0	0	0
0,01% KNO_3 + . . . etc.	0	+ ?	+, Sporenbildung nur gering
0,1% KNO_2 + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0	0
0,05% KNO_2 + . . etc.	0	0	0
0,01% KNO_2 + . . . etc.	0	+ ?	+ ?, Sporen nicht gebildet
0,1% $(NH_4)_2SO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0	0
0,05% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	0	0 in einer Kultur ganz geringes Wachstum	0
0,01% $(NH_4)_2SO_4$ + . . . etc.	+ ?	+	+ Sporen gebildet
0,1% $(NH_4)_2HPO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	0	0	0
0,05% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	0	+ ?	0
0,01% $(NH_4)_2HPO_4$ + . . . etc.	+	+	+ Sporen gebildet
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	+ ?	+	+ + Sporen gebildet
0,05% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+	+	+ + Sporen gebildet noch besser als in 0,1%
0,01% $Ca(NO_3)_2$ + . . . etc.	+ +	+ +	+ Sporen gebildet
Kontrolle: N-frei, Sp. $CaSO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	0	0	0

Diese Resultate schließen sich an die vorhergehenden recht gut an. C. catenatum und C. majus ähneln in ihrem Verhalten sehr C. muscicola. C. licheniforme form. Lemm. zeigte einige charakteristische Unterschiede von C. lich. form. typ. In der Tabelle ist zu diesem Zwecke mit vermerkt worden, ob Sporen gebildet wurden oder nicht. Wie bei der ersten Form bleibt die Bildung aus in Kaliumnitrat und Nitrit. In den Kulturen, die Sporen enthielten, machte sich dieser Umstand sofort bemerkbar durch die mehr oder weniger intensive Violettfärbung der Nährlösung. In den Kölbchen, die das beste Wachstum zeigten, war die Färbung am stärksten, in den übrigen entsprechend der Menge der gebildeten Sporen schwächer. Bei form. typ. behielt die Flüssigkeit auch in alten, sporenreichen Kulturen immer ihre Farblosigkeit. Ein weiterer Unterschied ist das Verhalten gegen Kalziumnitrat. Bei form. typ. liegt das Optimum ganz eindeutig bei 0,1 Prozent. Form. Lemm. hingegen zeigt das beste Wachstum bei 0,05 Prozent. In dem Kapitel über den Einfluß der Nährlösung auf Sporenbildung und Keimung werden diese Differenzen noch deutlicher hervortreten.

b. Die Frage der Stickstoffassimilation.

Die Beijerincksche Arbeit „Über oligonitrophile Mikroben“ (Verz. 2) veranlaßte mich, nähere Untersuchungen darüber anzustellen, ob tatsächlich Cyanophyceen imstande seien, ihre organische Substanz aus der Kohlensäure und dem Stickstoff der Luft aufzubauen. Beijerinck selbst schreibt darüber, er verstehe unter oligonitrophilen Mikroben solche, welche bei freier Konkurrenz mit der übrigen Mikrobenwelt sich in Nährlösungen entwickeln, ohne absichtlich zugefügte Stickstoffverbindungen, aber auch ohne daß Fürsorge getroffen wird, um die letzten Spuren dieser Verbindungen zu entfernen. Sie haben das Vermögen, den atmosphärischen Stickstoff zu binden und zu ihrer Ernährung zu verwenden.

Die Nährlösung, in der nach Beijerinck der Luftstickstoff von den Cyanophyceen, den an das Licht gebundenen Oligonitrophilen, assimiliert wird, ist Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4. Er gibt zu, daß sowohl in Leitungswasser, wie auch in der Erde, mit der geimpft wurde, geringe, aber doch deutlich wägbare Mengen von N-Salzen vorhanden seien. Das von ihm benutzte Leitungswasser enthielt pro Liter 0,42 mg, die Erde 0,56% Stickstoff. Diese Mengen könnten aber nicht genügen.

Auffallend war mir in der Beyerinckschen Arbeit folgende Stelle: „Sie (die oligonitrophilen Mikroben) entwickeln sich in Nährlösungen ohne absichtlich zugefügte Stickstoffverbindungen, aber auch ohne daß Sorge getragen wird, um die letzten Spuren dieser Verbindungen zu entfernen.“ (Verz. 2, S. 562.) Irgend welche Angaben,

daß auch in absolut stickstofffreien Nährlösungen gearbeitet wurde, fehlen bei Beijerinck. Ist nun aber das Wachstum in Lösungen mit wenn auch sehr geringen Mengen von N-Salzen wirklich ein Beweis, daß Luftstickstoff gebunden wurde? Warum sollen die Algen, wenn sie wirklich diese Eigenschaften besitzen, nicht auch in Nährlösungen wachsen, denen sicher auch jede Spur von Stickstoffsalzen fehlt? Über diese Fragen konnte ich in der Arbeit von Beijerinck keine Antwort finden. Auch die im Jahre 1892 von Schloesing fils u. Laurent angestellten und von B. zitierten Versuche (Verz. 8) waren nicht sehr beweiskräftig. Ob man von Kulturen auf Sandboden sagen kann, daß ihnen jede Spur von Stickstoffsalzen sowie von N-bindenden Bakterien fehle, ist zum mindesten sehr fraglich. Beijerinck selbst gibt zu, daß diese Versuche nicht völlig überzeugend wären. Interessant ist die Arbeit für meine Untersuchungen nebenbei jedoch, weil in den auf Sandboden kultivierten Algenrasen neben Nostoc punctiforme und N. minutum auch Cylindrospermum majus auftrat.

Ich hielt es daher für angebracht, diese Versuche in der von Beijerinck angegebenen Form zu wiederholen, dann aber auch Kulturen herzustellen, denen auch jede Spur eines Stickstoffsalzes fehlte. Zeitlich fielen diese Untersuchungen zusammen mit den zu Beginn des vorigen Kapitels beschriebenen. Dadurch, daß diese beiden Fragen, die Ermittlung geeigneter Nährlösungen und die Assimilation des Stickstoffs, gleichzeitig erledigt wurden, kam ich dann schließlich zu ganz anderen Resultaten als Beijerinck. Befestigt wurden dieselben dann noch durch die Ergebnisse der Versuche über den Einfluß der Nährlösung auf die Sporenbildung.

Die sporentragenden Cyanophyceen der Nostocgruppe sollten es nach B. sein, die die Fähigkeit besitzen, den Luftstickstoff zu assimilieren. Ich zog also auch zu den Versuchen mit stickstofffreien Nährlösungen Nostoc spec. heran, wie es schon im vorigen Kapitel geschehen war.

In großen, mit eingeschliffenen Deckeln versehenen Museumsgläsern wurde folgende Serie angesetzt:

1. 2 Gläser mit Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4.
2. 2 „ „ doppelt destill. Wasser + Sp. $CaSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + 0,02% $MgSO_4$ + Sp. Fe.
3. 2 Gläser mit doppelt destill. Wasser + Sp. $CaCO_3$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe; nach dem Sterilisieren CO_2 eingeleitet.
4. Kontrolle: 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe.

Gleichzeitig wurde ein Parallelversuch in Erlenmeyerkölbchen angesetzt. Die ungefähr 20 cm hohen Museumsgläser wurden nur bis zur Hälfte mit Nährlösung gefüllt und nach dem Sterilisieren mit Fett

luftdicht verschlossen. Es wurde auch dafür Sorge getragen, daß das geimpfte Stück Algenrasen nicht untersank, sondern an der Oberfläche der Kultur schwamm, sich also in den günstigsten Bedingungen befand. Das Abschließen der Kulturen hatte den Zweck, eventuell von außen herantretende Ammoniumverbindungen, wie sie in der Laboratoriumsluft vorkommen können, auszuschalten. Die Luftsäule in dem verschlossenen Standglase war aber groß genug, um der Alge genügend Luftstickstoff sowie Kohlensäure zu bieten. Es zeigte sich jedoch, daß diese Vorsicht unnötig war.

Die Kulturgefäße wurden mit besonderer Sorgfalt gesäubert, wie dies in der Methodik beschrieben wurde. Bei Verwendung Merckscher Salze (mit „pro analysi“ bezeichnet) konnte man dann annehmen, daß die Nährlösungen, in die man keine Stickstoffsalze hineingetan hatte, auch wirklich frei davon waren. Der Versuch wurde angesetzt mit C. licheniforme form. typ., er lief vom 29. X. 12 bis zum 5. XII. 12.

Geschlossenes Museumsglas: Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4	Ziemlich gutes Wachstum
Erlenmeyerkölbchen: Leitungswasser + 0,02% K_2HPO_4	Gutes Wachstum
Geschlossenes Museumsglas: Sp. $CaSO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	Nicht gewachsen, geimpfte Fäden bleich geworden
Erlenmeyerkölbchen: Sp. $CaSO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	Nicht gewachsen, geimpfte Fäden bleich geworden
Geschlossenes Museumsglas: Sp. $CaCO_3$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe. CO_2 eingeleitet	Nicht gewachsen, geimpfte Fäden bleich geworden
Erlenmeyerkölbchen: Sp. $CaCO_3$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe. CO_2 eingeleitet	Nicht gewachsen, geimpfte Fäden bleich geworden
Geschlossenes Museumsglas: 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	Gutes Wachstum
Erlenmeyerkölbchen: 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	Sehr gutes Wachstum

Aus diesem Versuch ergibt sich zunächst einmal, daß es nicht viel ausmacht, ob man die äußere Luft von der Kultur abschließt. In stickstofffreien Nährlösungen vermag die Alge auch dann nicht zu wachsen, wenn man ihr die eventuellen Ammoniumsalze der Luft zur Verfügung stellt. Das Wachstum in den übrigen geschlossenen Gefäßen war immer etwas schlechter, als in Erlenmeyerkolben, dies ist jedoch nicht weiter verwunderlich, da wohl der vollständige Abschluß der Luft nach einiger Zeit, jedenfalls nach Verbrauch der Kohlensäure,

das Wachstum zum Stillstand bringt. In Kalziumnitratlösung war die Alge am besten gewachsen, besser sogar als in Leitungswasser und Kaliumphosphat. Das spricht kaum für die Möglichkeit einer Stickstoff-Assimilation, eher kann man daraus schließen, daß im Leitungswasser Stickstoffspuren vorhanden sind, die genügen; denn sonst würde die Alge nicht in einer noch stärker N-haltigen Lösung besser wachsen.

Mit den übrigen Cylindrospermumarten, sowie mit Nostoc wurden die Versuche nun nur noch in Erlenmeyerkölbchen angesetzt. Die Ergebnisse sind in den Protokollen des vorigen Kapitels angegeben. In keinem Falle trat ein Wachstum auf, wenn nicht geringe Spuren eines N-Salzes zur Verfügung standen. Ein einziges Mal konnte ich in einer stickstofffreien Kultur bei C. muscicola deutliches Wachstum verzeichnen, da jedoch gleichzeitig ein Pilz darin wucherte, so nehme ich als sicher an, daß die Nährlösung durch irgend einen Zufall verunreinigt wurde, als beweiskräftig also nicht mehr angesehen werden konnte. Die Wiederholung brachte dann auch ein vollständiges Ausbleiben des Wachstums wie bei den übrigen Arten.

Zum Verständnis der Stickstofffrage muß hier noch einmal auf die Versuche zur Ermittlung geeigneter Nährlösungen eingegangen werden. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Algen nicht mit jedem N-Salz gleich gut wachsen, jede Art verhält sich sogar verschieden. Immer jedoch muß das Salz in einer ganz bestimmten Konzentration vorliegen, damit Wachstum eintritt. Für die meisten Salze ist diese Stufe bei 0,01%. Für Kalziumnitrat, die beste Stickstoffquelle, schwankt die für die Entwicklung geeignete Konzentration bei den verschiedenen Arten zwischen 0,1—0,01 Prozent.

In Kulturen, in denen noch weniger N-Salz vorhanden ist, als dem Optimum entspricht, ist das Wachstum bedeutend schwächer, um in gänzlich N-freien Lösungen völlig auszubleiben. Es sei ferner noch hervorgehoben, daß Nostoc sich nicht genau so verhält wie Cylindrospermum. Sein Stickstoffbedürfnis ist bedeutend höher; das Optimum liegt für alle Salze durchschnittlich bei 0,05 Prozent. Hiernach nehmen die Nostocarten eine Mittelstellung ein zwischen Cyanophyceen mit geringem Stickstoffbedürfnis und den Oscillarien, die bedeutend mehr Stickstoff brauchen.

Nach den angegebenen Resultaten halte ich nunmehr die Assimilation des Luftstickstoffs für ausgeschlossen. Folgende Beweise dafür möchte ich zum Schluß noch einmal zusammenstellen:

I. Es tritt kein Wachstum ein, wenn man aus einer stickstoffarmen Kultur, z. B. Leitungswasser und Kaliumphosphat, in eine vollständig stickstofffreie überimpft.

II. Die Menge der gebildeten Algensubstanz ist deutlich abhängig von der gebotenen Stickstoffmenge. Am deutlichsten tritt dieses Ver-

hältnis bei Kalziumnitrat hervor. So erhält man zum Beispiel in 0,1 Prozent sehr üppiges Wachstum, in 0,05 noch ziemlich gutes, in 0,01 nur sehr mäßiges Wachstum. In gänzlich N-freien Lösungen stirbt die Alge ab.

III. Die Art der Stickstoffquelle ist von größter Bedeutung; am besten, teilweise sogar ausschließlich, wachsen die Algen in Kalziumnitrat.

c. Der Einfluß der Nährlösung auf Sporenbildung und Keimung.

Bei der großen Anzahl von Kulturen, die im Laufe meiner Untersuchungen angesetzt und fast täglich beobachtet wurden, konnte ich immer bemerken, daß die Algen erst eine ziemliche Zeit lang vegetativ wuchsen und dann plötzlich anfingen, große Mengen von Sporen zu bilden. Besonders schön konnte man dies in Petrischalen mit Kieselgallerte beobachten, aber auch Flüssigkeitskulturen zeigten diese Tatsache deutlich. In Leitungswasser mit Kaliumphosphat stellte sich dieser Prozeß bedeutend früher ein, als in einer Nährlösung mit Kalziumnitrat. Es ließ sich daraus schon schließen, daß eine derartige vollständige Nährösung das vegetative Wachstum bedeutend fördert. Solche Kulturen wurden auch immer viel üppiger als die mit Leitungswasser angesetzten. Ich benutzte diese Tatsache ja auch, um die Keimung zu verursachen. Die Sporen keimten aus, wenn man auf die alte, halbeingetrocknete Kieselgallerteschicht die für jede Art charakteristische optimale Nährlösung brachte. Die Kultur mußte also vorher, als sie zur Sporenbildung schritt, an irgend einem Stoffe Mangel gelitten haben. Durch die frische Nährlösung wurde dann dieser Stoff wieder hinzugefügt, worauf die Alge in den vegetativen Zustand überging. Für die morphologische Untersuchung dieses Vorganges genügte es, zu wissen, welche Lösung für jede Art die zweckmäßigste ist. Vom physiologischen Standpunkt aus war es aber auch noch von Interesse, zu wissen, ob die gesamten, in der Flüssigkeit enthaltenen Salze nötig sind, oder ob auch schon eines derselben genügt, die Keimung zu verursachen. Man könnte daraus dann schließen, daß die Spore von diesem Stoff nicht genügend enthält, ja daß durch den Mangel an diesem Salz die Sporenbildung veranlaßt wurde.

Man konnte es nun durch das Abstufen der Konzentration des einen oder des anderen Salzes bewirken, daß dasselbe in einer Kultur im Minimum vorhanden war. Ich stellte nur wenige Versuche in dieser Richtung an, kann deshalb also auch nicht ein endgültiges Urteil darüber aussprechen, ob die obige Anschauung richtig ist, aber die wenigen Experimente, die ich anstellte, geben doch schon sehr interessante Resultate.

Nur zwei Arten zog ich zu diesen Untersuchungen heran, und zwar die beiden Formen von Cylindrospermum licheniforme. Ich hoffte dadurch gleichzeitig noch weitere Unterscheidungsmerkmale zu gewinnen, was auch tatsächlich gelang. Eine Serie setzte ich an, um den Stickstoff ins Minimum zu bringen. Kalziumnitrat wurde also in Konzentrationen von 0,1 bis 0,001 Prozent verwendet. Magnesiumsulfat und Kaliumphosphat mußten in genügender Menge gegeben werden. Um sicher zu gehen, wurden neben den Kulturen, die wie gewöhnlich 0,02 Prozent von diesen Salzen enthielten, auch solche angesetzt mit 0,05 Prozent. Es zeigte sich jedoch, daß in letzterem Falle das Wachstum schlechter war als bei der üblichen Konzentration. Kalziumsulfat mußte überall in geringer Menge zugefügt werden, um nicht gleichzeitig mit dem Stickstoff das Kalzium ins Minimum zu bringen.

Die zweite Serie wurde angesetzt, um den Phosphor ins Minimum zu bringen. Ich stufte also die Konzentrationen von Kaliumphosphat von 0,02 bis 0,0001 Prozent ab. Um nicht auch das Kalium ins Minimum zu bringen, wurde allen Kulturen gleichmäßig 0,01 Prozent Kaliumnitrat zugesetzt.

Von jeder beschriebenen Nährlösung wurden vier Erlenmeyerkolben angesetzt, und je zwei mit forma typica und forma Lemmermanni geimpft. Die Kulturen blieben über zwei Monate sich selbst überlassen, so daß der Sporenbildungsprozeß zum Schluß beendet war.

Protokoll zu Serie I. (Angesetzt am 7. VIII. 13.)

Nährlösungen	C. lich. f. typ. am 17. X. 13	C. lich. f. Lemm. am 17. X. 13
0,1% **Ca(NO$_3$)$_2$** + 0,05% $MgSO_4$ + 0,05% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Sehr geringes Wachstum	Sehr geringes Wachstum.
0,1% **Ca(NO$_3$)$_2$** + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Sehr gutes Wachstum, dicke Rasen von schwärzlichen Sporen gebildet (Optimum)	Sehr gutes Wachstum, dicke Sporenrasen, die Nährl. lebhaft violett (Optimum)
0,01% **Ca(NO$_3$)$_2$** + 0,05% $MgSO_4$ + 0,05% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Ganz geringes Wachstum, Fäden bleich geworden	Geringes, aber deutliches Wachstum, Sporen gut gebildet, Flüssigkeit schwach violett.
0,01% **Ca(NO$_3$)$_2$** + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Geringes Wachstum, jedoch sind **Sporen gebildet**	Gutes Wachstum, fast so wie im Optimum, dicke Sporenmassen, Flüssigkeit lebhaft violett.

Nährlösungen	C. lich. f. typ. am 17. X. 13	C. lich. f. Lemm. am 17. X. 13
0,005% $Ca(NO_3)_2$ + 0,05% $MgSO_4$ + 0,05% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Sehr geringes Wachstum, Sporen nicht gebildet	Geringes Wachstum, aber Sporen gebildet, Flüss. schwach violett.
0,005% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Sehr geringes Wachstum, Fäden noch grün, Sporen nicht gebildet	Gutes Wachstum, **Sporen gebildet,** Flüss. lebhaft violett.
0,001% $Ca(NO_3)_2$ + 0,05% $MgSO_4$ + 0,05% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Nicht gewachsen	Nicht gewachsen.
0,001% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe	Nur in einer Kultur ganz geringes Wachstum, Fäden bleich geworden	Nicht gewachsen.
N-frei. Sp. $CaSO_4$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe	Nicht gewachsen	Nicht gewachsen.

Ganz abgesehen von den mit diesem Versuch beabsichtigten Resultaten, gibt er eine weitere sehr gute Illustration zur Frage der Stickstoffassimilation. Ganz deutlich nimmt die Menge der gebildeten Algensubstanz ab mit der des gebotenen Nitrats. Die Konzentrationen 0,05% Magnesiumsulfat und Kaliumphosphat waren für forma typ. sichtlich zu hoch, während form. Lemmerm. sich nicht so empfindlich dagegen zeigte. Das Minimum von Kalziumnitrat, das nötig war, um die Sporenbildung noch zu ermöglichen, war für form. typ. 0,01 Prozent, für form. Lemm. dagegen 0,005 Prozent, ein weiterer Unterschied dieser beiden Formen. Die Sporenrasen aus den Minimumkulturen wurden abgeerntet und in sterilen Schalen getrocknet.

Protokoll zu Serie II. (Angesetzt am 7. VIII. 13.)

Nährlösungen	C. lich. f. typ. am 17. X. 13	C. lich. f. Lemm. am 17. X. 13
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,02%** K_2HPO_4 + 0,01% KNO_3 + Sp. Fe	Gutes Wachstum, Sporen gebildet.	Nur mäßiges Wachstum, Sporen gebildet, Flüssigkeit violett.
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,01%** K_2HPO_4 + 0,01% KNO_3 + Sp. Fe	Sehr gutes Wachstum, Sporen reichlich gebildet (Optimum)	Gutes Wachstum, Sporen gebildet, Flüssigkeit violett.

Nährlösungen	C. lich. f. typ. am 17. X. 13	C. lich. f. Lemm. am 17. X. 13
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,005% K_2HPO_4** + 0,01% KNO_3 + Sp. Fe	Ebenso gut wie in 0,01% K_2HPO_4, in einer Kultur fast noch üppiger zu nennen.	Sehr gutes Wachstum, reichlich Sporen gebildet, Flüssigkeit violett. Optimum.
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,001% K_2HPO_4** + 0,01% KNO_3 + Sp. Fe	Geringer als in 0,005% K_2HPO_4, aber noch gute Sporenbildg.	Gutes Wachstum, **Sporen gebildet,** Flüssigkeit violett.
0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,0001% K_2HPO_4** + 0,01% KNO_3 + Sp. Fe	Eine Kultur blieb aus, die andere zeigte jedoch **gute Sporenbildung.**	Nicht gewachsen.
P-frei, 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,01% KNO_3 + Sp. Fe	Nicht gewachsen.	Nicht gewachsen.

Beide Formen sind also auch in dem Verbrauch von Phosphor nicht ganz gleich. Das Minimum liegt, im Gegensatz zum Stickstoff, für C. lich. form. typ. tiefer als für form. Lemm. Auch von dieser Serie wurden die Sporenrasen abgeerntet und getrocknet. Nunmehr mußte der zweite Teil der Aufgabe erledigt werden, die Keimung dieser Sporen aus Kulturen, die teilweise an Stickstoff, teilweise an Phosphor Mangel gelitten hatten. Um die Sporen vorerst einmal von den Spuren von Salzen, die ihnen aus der vorhergehenden Nährlösung noch anhaften konnten, zu befreien, wurden sie 24 Stunden in doppelt destilliertes Wasser getan. Darauf wurden die Dauerzellen ausgesät, und zwar in folgende Nährlösungen:

C. lich. form. typ. aus **0,01%** **$Ca(NO_3)_2$** + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Spur $CaSO_4$ + Sp. Fe
1. in 0,1% $Ca(NO_3)_2$
2. in 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe
3. in doppelt destill. Wasser

C. lich. form. Lemm. aus **0,005%** **$Ca(NO_3)_2$** + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe
1. in 0,05% $Ca(NO_3)_2$
2. in 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe
3. in doppelt destill. Wasser

C. lich. form. typ. aus 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,0001% K_2HPO_4** + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe
1. in 0,02% K_2HPO_4
2. in 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe
3. in doppelt destill. Wasser

C. lich. form. Lemm. aus 0,1% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,001% K_2HPO_4** + Sp. $CaSO_4$ + Sp. Fe
1. in 0,02% K_2HPO_4
2. in 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe
3. in doppelt destill. Wasser

Nostoc spec. aus 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + **0,001%** **K_2HPO_4** + Sp. Fe
1. in 0,02% K_2HPO_4
2. in 0,05% $Ca(NO_3)_2$ + 0,02% $MgSO_4$ + 0,02% K_2HPO_4 + Sp. Fe
3. in doppelt destill. Wasser.

Die Sporen von Nostoc konnten zum Vergleich mit angesetzt werden, da eine alte Kultur, die nicht zu dieser Versuchsreihe gehörte, vorhanden war. Die Kontrolle mit optimaler Nährlösung war nötig, um zu sehen, ob die Sporen überhaupt gesund und keimfähig waren. Die Kulturen in destilliertem Wasser waren nötig, um zu erfahren, ob nicht schon die Feuchtigkeit allein, ohne Salz, genügte, die Keimung zu verursachen. Der Versuch wurde nach ungefähr 3 Wochen unterbrochen, um durch mikroskopische Untersuchung feststellen zu können, ob die Sporen gekeimt waren. Die Serie, deren Protokoll hier folgt, wurde angesetzt am 20. X. 13 und wurde beendet am 13. XI. 13.

	in destilliertem Wasser	in der kompletten Nährlösung	in den Nährlösungen mit nur einem Salz
C. l. form. typ. aus **0,01 % $Ca(NO_3)_2$** + 0,02 % $MgSO_4$ + 0,02 % K_2HPO_4 + Sp. $CaSO_4$ + Fe	Nicht die geringsten Merkmale der Keimung zu sehen.	Gut ausgekeimt, Fäden von ziemlicher Größe schon vorhanden.	Nährl. 0,1 % $Ca(NO_3)_2$, sehr viele Sporen im Keimen begriffen.
C. l. form. Lemm. a. **0,005 % $Ca(NO_3)_2$** etc.	Nicht die geringsten Spuren der Keimung zu sehen.	Nur geringe Mengen v. Keimungen zu sehen. (Die Spore keimt überhaupt schlecht).	Nährl. 0,05 % Ca. $(NO_3)_2$ einige Sporen an einem Ende aufgehellt. (Zeichen für beginnende Keimung.)
C. l. form. typ. aus **0,0001 % K_2HPO_4** etc.	Nicht ausgekeimt.	Gut ausgekeimt, vegetative Fäden vorhanden.	Nährl. 0,02 % K_2HPO_4 die größte Anzahl der Sporen zum mindesten am Ende aufgehellt.
C. l. form. Lemm. a. **0,001 % K_2HPO_4** etc.	Nicht ausgekeimt.	Einige Sporen, wenn auch nur wenige, keimen aus.	Nährl. 0,02 % K_2HPO_4 bei einer geringen Zahl von Sporen ein Ansatz zur Keimung sichtbar.
Nostoc spec. aus **0,001 % K_2HPO_4** etc.	Gut ausgekeimt.	Gut ausgekeimt.	Gut ausgekeimt.

Es zeigte sich also aus dem Versuch folgendes: Nostoc keimt schon im destillierten Wasser aus, für die Beantwortung der gestellten Frage ist also das Resultat nichtssagend. Ganz eindeutig ist der Versuch geglückt bei C. lich. form. typ. Das frisch hinzukommende Salz, das vorher im Minimum vorhanden war, genügt tatsächlich, die Spore zum Keimen zu veranlassen. Dies gelang gleich gut für Phosphor wie für Stickstoff. Leider ist die zweite Art, C. lich. form. Lemm., ziemlich ungeeignet für die Untersuchung. Die Alge keimt nämlich aus mir unbekannten Gründen auch in kompletter Nährlösung nur schlecht aus. Ich möchte also den Resultaten dieser Serie ein Frage-

zeichen beigeben, obgleich Anzeichen dafür vorhanden sind, daß sie sich ebenso verhält wie form. typ. Es bleibt wohl weiteren Untersuchungen vorbehalten, Klarheit über die ganze Frage zu schaffen. Ich machte die geschilderten Versuche erst zum Schluß meiner Arbeit, so daß es mir nicht möglich war, eingehendere Experimente anzustellen. Ich konnte wenigstens soviel feststellen, daß Sporen gebildet werden in Lösungen, die nur sehr wenig Stickstoff, und solchen, die noch weniger Phosphor enthielten. Die Sporen aus derartigen Kulturen, gut getrocknet und gewaschen, keimten dann in Lösungen, die nur diesen einen, vorher im Minimum vorhandenen Stoff enthielten.

d. Einfluß der Trockenheit und extremer Temperaturen auf die Sporen.

Die derbe Haut der Spore von Cylindrospermum berechtigt schon von vornherein zu der Annahme, daß die Widerstandskraft dieser Gebilde gegen allerlei äußere Einflüsse, wie Eintrocknen, Hitze, Kälte ziemlich groß ist. So besaß ich eine Sammlung von Erdproben, die ein halbes Jahr lang im Laboratorium gestanden hatten. Die dort herrschende, wasserdampfarme Luft hatte bewirkt, daß die Erde ein vollständig trocknes Pulver geworden war. Benutzte man dieses Material zu Anhäufungsversuchen, so zeigte die sich üppig entwickelnde Cyanophyceenflora, daß die in der Erde befindlichen Sporen ihre Keimfähigkeit nicht verloren hatten. Ebenfalls wurden gute Kulturen aus Proben gezogen, die bei strenger Kälte aus dem vereisten Boden gebrochen waren.

Ich stellte mir nun folgende Fragen, um sichere Auskunft über die Widerstandsfähigkeit der Dauerzelle zu erhalten.

1. Hält die Spore das Austrocknen aus?
2. Wie verhält sich die vegetative Zelle gegen das Austrocknen?
3. Wie verhält sich Spore, sowie vegetative Zelle gegen Temperaturen unter dem Gefrierpunkt?
4. Wie verhalten sich beide gegen höhere Temperaturen?

Ich benutzte C. licheniforme form. typ. sowie C. muscicola, die mir als gut wachsende und leicht auskeimende Arten bekannt waren. Zum Vergleich zog ich noch Nostoc spec. als Vertreter einer Gruppe mit einfacher gebauten Sporen, sowie Oscillaria brevis, als Vertreter der sporenlosen Cyanophyceen, heran.

Es wurde zuerst exakt nachgeprüft, ob die Dauerzellen das Eintrocknen aushalten, obwohl diese Tatsache ja von vornherein als feststehend angenommen werden konnte. Gleichzeitig untersuchte ich die Resistenz der vegetativen Zelle. Auch diese Frage stand, wenigstens für Cylindrospermum, schon vorher ziemlich fest. Wenn man nämlich eine ausgetrocknete Kieselgallertekultur mikroskopisch untersuchte, so

konnte man immer wahrnehmen, daß die vegetativen Algenfäden abgestorben waren. Sie waren meist in kurze Bruchstücke zerfallen und hatten ihre Farbe verloren.

Als Material für den Eintrocknungsversuch fanden die alten Kulturen auf Tonplatten, die dicke Polster von Sporen enthielten, Verwendung. Die Nährlösung wurde abgegossen und die Deckelschalen mit etwas gelüftetem Deckel aufgestellt, so daß die den Rasen noch anhaftende Flüssigkeit verdunsten konnte, ohne ein Eindringen von Staub befürchten zu müssen. Nach vierzehn Tagen waren die Kulturen gewöhnlich ausgetrocknet, sie wurden nunmehr noch vier Tage in den Exsikkator gestellt. Diese Methode wurde immer benutzt, wenn für einen der folgenden Versuche trockenes Sporenmaterial benötigt wurde. Die Gefäße wurden dann schließlich im Impfkasten geöffnet, und die Tonplatte mit allen Vorsichtsmaßregeln gegen Pilzinfektion zerkleinert, um gute Impfstückchen zu erhalten. Von Oscillaria brevis, sowie Nostoc spec. lagen ebenfalls solche Kulturen vor. Rein vegetatives Material wurde, da es genau untersucht werden mußte, ob auch nicht eine Spore dazwischen war, auf Kieselgallerte gezogen. Der Rasen ließ sich dann ebenfalls trocknen, wobei das Substrat in viele kleine Schollen zerfiel, die leicht mit der Pinzette in eine neue Nährlösung übertragen werden konnten. Als Kulturflüssigkeit wurde immer die für jede Art charakteristische optimale Lösung mit Kalziumnitrat benutzt.

Es folgt das Protokoll zu diesem Versuch. Die Zeichen bedeuten: 0 = nicht gewachsen, + = gewachsen, + ? = mäßig gewachsen.

Angesetzt am 24. I. 13	Sporen getrocknet, am 27. II. 13	Vegetative Fäden getrocknet, am 27. II. 13
Cylindrospermum licheniforme form. typ.	+	0
Cylindrospermum muscicola .	+	0
Nostoc spec.	+	0
Oscillaria brevis.	—	+

Aus diesem einfachen Versuch geht mit Sicherheit hervor, daß die zarten vegetativen Fäden sporenbildender Cyanophyceen das Eintrocknen nicht vertragen. Um ganz sicher zu gehen, wurden die Kulturen, die kein Wachstum gezeigt hatten, noch einmal angesetzt; das Resultat blieb das gleiche. Die der Sporen entbehrenden Oscillarien hatten das Austrocknen gut überstanden.

Die folgenden Untersuchungen erstrecken sich nun auf die Widerstandsfähigkeit der Algen bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt.

Die untersuchten Arten waren dieselben, nur wurde neben trockenem Material auch feuchtes, und zwar sowohl Sporen, als auch rein vegetative Fäden verwendet. Zur Erlangung tiefer Temperaturen kamen verschiedene Methoden zur Benutzung. Zuerst wurde die natürliche Kälte des Winters verwendet. Um tiefere Temperaturen zu erreichen, stellte ich dann verschiedene Kältemischungen her (nach Landold-Börnstein, Verz. 6). Möglichst lange mußte die Temperatur konstant gehalten werden, die Gefäße mit den temperaturerniedrigenden Mischungen wurden daher mit guten Wärmeisolationsmitteln umgeben. Am besten eignete sich dazu wollene Watte. Der Topf mit der Kältemischung wurde dick damit umwickelt und dann in einen Pappkasten, dessen doppelte Wände mit Sägespänen ausgefüllt waren, gestellt. Durch diese Hilfsmittel gelang es, die Temperatur ziemlich lange auf einem tiefen Niveau zu halten. Als Kältequelle fand erstens ein Gemisch von gleichen Teilen Eis und Kochsalz Anwendung. In diesem standen Röhrchen aus Messing, die das Algenmaterial sowie ein Thermometer enthielten. Der erste Versuch dauerte vom 11. II. 13 mittags 12 Uhr bis abends 10 Uhr. Eis und Kochsalz wurden in dieser Zeit einige Male erneuert. Folgende Temperaturablesungen wurden gemacht:

$12^h\ 0^m$	-21^0	$5^h\ 45^m$	$-18{,}5^0$
$2^h\ 18^m$	-18^0	$7^h\ 0^m$	-18^0
$4^h\ 15^m$	-16^0	$8^h\ 30^m$	-15^0
$5^h\ 15^m$	-17^0	$10^h\ 0^m$	-16^0

Die Algen wurden dann in der Mischung stehen gelassen, Eis und Kochsalz aber nicht mehr hinzugefügt. Am andern Morgen 10^h, als der Versuch abgebrochen wurde, war die Temperatur noch bei -4^0. Die Algen waren also 10 Stunden lang bei einer Temperatur, die zwischen -15^0 und -21^0 schwankte, die übrigen 12 Stunden stieg die Temperatur dann langsam auf -4^0.

Anschließend setzte ich noch einen zweiten Versuch an mit noch tieferen Kältegraden. Es wurde dazu eine Mischung von fester Kohlensäure und Alkohol benutzt. Die Ablesungen am Thermometer waren folgende:

$12^h\ 0^m$	-70^0	$1^h\ 20^m$	-71^0
$12^h\ 6^m$	-73^0	$1^h\ 30^m$	-68^0
$12^h\ 20^m$	-72^0	$1^h\ 55^m$	-73^0
$12^h\ 30^m$	-60^0	$2^h\ 45^m$	-71^0
$12^h\ 35^m$	-72^0	$3^h\ 0^m$	-69^0
$12^h\ 40^m$	-75^0	$3^h\ 10^m$	$-69{,}5^0$
$12^h\ 45^m$	-78^0	$3^h\ 20^m$	-68^0
$12^h\ 50^m$	-76^0	$3^h\ 30^m$	-67^0
$1^h\ 0^m$	-75^0	$3^h\ 40^m$	-65^0
$1^h\ 10^m$	-73^0	$3^h\ 50^m$	-60^0

3^h 55^m wurde der Versuch dann bei -60^0 abgeschlossen. Die Algen waren also fast 4 Stunden einer Temperatur von mindestens 60^0 Kälte unterworfen.

Ferner wurden Kulturen vier Tage lang ins Freie an ein Nordfenster gestellt, und zwar auch vegetative Zellen ohne Sporen. Das Minimum- und Maximumthermometer zeigte in dieser Zeit als Grenzpunkte -2^0 und -8^0 an.

Die Protokolle dieser drei Serien sollen hier gemeinsam angegeben werden.

Ungefähr 3 Wochen in Kalziumnitratlösung kultiviert	4 Tage im Freien -2^0 bis -8^0	-16^0 (u. tiefer)	-60^0 (u. tiefer)
C. lich. f. typ. trockene Sporen	+	+	+
C. lich. f. typ. feuchte Sporen	+	+	+
C. lich. f. typ. vegetat. Fäden	0		
C. muscicola trockene Sporen	+	+	+
C. muscicola feuchte Sporen	+	+	+ ?
C. muscicola vegetat. Fäden	0		
Nostoc trockene Sporen	+	+	+
Nostoc feuchte Sporen	+	+	+ ?
Nostoc vegetat. Fäden	0		
Oscill. brevis trocken	+	+	+
Oscill. brevis feucht	+	+	+ ?

Man kann aus diesen Resultaten entnehmen, daß die trockenen Sporen ziemlich tiefe Temperaturen gut vertragen, von C. lich. form. typ., einer Art mit sehr festen, derben Dauerzellen, sind auch die feuchten von derselben Widerstandskraft. Für C. muscicola und Nostoc, mit weniger von vegetativen Zellen abweichenden Sporen ausgestattet, sowie für die sporenlose Oscillaria brevis ist bei -60^0 schon ein Unterschied zwischen trockenem und feuchtem Material wahrnehmbar. Das feuchte Material war im Wachstum weit hinter dem trockenen zurück, muß also durch den Eingriff geschwächt worden sein. Die vegetativen Zellen der sporentragenden Arten gingen schon bei -2^0 bis -8^0 ein.

Die ganze Versuchsreihe wurde noch einmal wiederholt. Eine kleine Abänderung war bei der Anordnung getroffen. Die Wärmeisolation war inzwischen noch so weit verbessert worden, daß eine einmalige Füllung mit fester Kohlensäure und Alkohol genügte, um eine konstante Temperatur von ungefähr 80^0 unter Null sechs Stunden lang zu erhalten. Das hatte zur Folge, daß bei Oscillaria brevis

(feucht) das Wachstum ganz ausblieb, während C. muscicola (feucht) und Nostoc (feucht) wieder sehr mäßiges Wachstum zeigten. Sonst stimmen die Resultate mit der Tabelle überein.

Die letzte Aufgabe bestand nun darin, die Frage zu beantworten, wie sich die Algen gegen höhere Temperaturen verhielten. Es war von vornherein ziemlich ausgeschlossen, daß z. B. 100° eine so lange Zeit hindurch ausgehalten würde, wie die Kältegrade. Es war daher dafür Sorge zu tragen, daß die Sporen im Innern der Messingröhrchen die Temperatur auch wirklich in der kurzen Zeit, die das Experiment dauerte, annahmen. Die Algen mußten also mit der Metallwand direkt in Berührung kommen. Es wurden deshalb auch nicht mehr Tonscherben mit den anhaftenden Sporen benutzt, sondern nur noch Algen, die von dem Substrat, auf dem sie gewachsen waren, abgeschabt waren. Die vollständig sterilisierten Röhrchen wurden an einem Drahtgestell in einem Wasserbad so aufgestellt, daß die Verschlußstopfen über der Oberfläche waren, also in die Röhren keine Feuchtigkeit eindringen konnte. Sie wurden vorgewärmt, bis das in einem Röhrchen angebrachte Thermometer die gewünschte Temperatur zeigte. Dann wurden die Gefäße schnell geöffnet und die Algen hineingetan. Die Temperatur sank dabei, nach einiger Übung, höchstens um einen Grad, stieg aber schon nach einer Minute wieder auf die gewünschte Höhe.

Wiederum zog ich, neben C. lich. form. typ. und C. muscicola, auch Nostoc spec. und Oscillaria brevis heran, und zwar als feuchtes und trockenes Material. Von den sporentragenden Arten wurden auch feuchte vegetative Fäden untersucht. Die folgenden Protokolle sind so zu verstehen: In der ersten Rubrik links stehen die Angaben über Dauer und Art des Versuchs. Die folgenden Abteilungen zeigen das Wachstum der behandelten Algen in der für jede Art bekannten optimalen Nährlösung mit Kalziumnitrat an. Die ausgesäeten Sporen etc. wurden erst nach ungefähr sechs Wochen untersucht, wenn sie also überhaupt noch am Leben waren, so mußte in dieser Zeit Wachstum eingetreten sein.

Serie I. Trockene Sporen.

	C. lich. f. typ.	C. muscicola	Oscill. (sporenlos)	Nostoc
10 Minuten auf 80°	+	+	+	+
20 Minuten auf 80°	+	+	+	+
10 Minuten auf 85°	+	+	+	+
20 Minuten auf 85°	+	+	+	+

	C. lich. f. typ.	C. muscicola	Oscill. (sporenlos)	Nostoc
10 Minuten auf 90°	+	+	+	+
20 Minuten auf 90°	+	+	+	+
10 Minuten auf 95°	+	+	+	+
20 Minuten auf 95°	0	0	0	0
2 Minuten auf 100°	+	+	+	+
5 Minuten auf 100°	0	0	0	0

Im ausgetrockneten Zustande verhalten sich also die verschiedenen Arten ganz gleich. Ein ganz kurzer Aufenthalt in 100° ließ die Sporen sowie die vegetativen Oscillariafäden noch am Leben, aber schon fünf Minuten in der Temperatur des kochenden Wassers gelassen, starben sie sämtlich ab. Auch eine zwanzig Minuten hindurch einwirkende Hitze von 95° war schon imstande, alles Leben zu vernichten.

Serie II. Feuchte Sporen.

	C. lich. f. typ.	C. muscicola	Oscill. brev. sporenlos	Nostoc spec.
10 Minuten auf 60°	+	+	+	+
20 Minuten auf 60°	+	+	+	+
10 Minuten auf 70°	+	+	0	+
20 Minuten auf 70°	+	+	0	+
10 Minuten auf 80°	+	+	0	0 (+ ?) eine Kultur wenig gew.
20 Minuten auf 80°	+	+	0	0
10 Minuten auf 90°	0	+	0	0
20 Minuten auf 90°	0	0	0	0
10 Minuten auf 95°	0	0	0	0
20 Minuten auf 95°	0	0	0	0
2 Minuten auf 100°	0	0	0	0

Deutlich erkennbar ist aus der Tabelle, daß die mit der festesten Membran ausgestatteten Cylindrospermumarten am widerstandfähigsten sind, Nostoc unterliegt der Hitze schon früher, und am empfindlichsten ist die gänzlich der Dauerzelle entbehrende Oscillaria brevis. Es bleiben nun noch die vegetativen Zellen der drei mit Sporen versehenen Arten zu untersuchen. Natürlich konnte nur ihre Resistenz im feuchten Zustand gefunden werden. Denn, wie gezeigt, gingen sie schon beim Eintrocknen zugrunde. Ich fing mit sehr niedrigen Temperaturerhöhungen an.

Serie III. Vegetative Zellen.

	C. lich. f. typ.	C. muscicola	Nostoc spec.
10 Minuten auf 35° . .	+	+	+
20 Minuten auf 35° . .	+	+	+
10 Minuten auf 40° . .	+	+	+
20 Minuten auf 40° . .	0	0	0
10 Minuten auf 50° . .	0	0	0
20 Minuten auf 50° . .	0	0	0
10 Minuten auf 60° . .	0	0	0
20 Minuten auf 60° . .	0	0	0

Wie nach den vorausgehenden Versuchen zu erwarten war, hatte die vegetative Zelle der untersuchten Arten nur eine sehr geringe Resistenz gegen höhere Temperaturen. Sie braucht dieselbe ja nicht, denn die desto widerstandsfähigere Spore hilft der Pflanze über ungünstige Einflüsse hinweg.

Man kann wohl annehmen, daß die übrigen Cylindrospermum-Arten sich darin nicht anders verhalten, denn der Bau ihrer Spore ist im großen und ganzen derselbe.

Zum Schluß sei die Antwort auf die anfangs gestellten Fragen hier nochmals zusammengestellt.

1. Die Sporen, sowie Zellen von sporenlosen Arten halten das Eintrocknen gut aus.

2. Die vegetativen Zellen der sporentragenden Arten gehen beim Eintrocknen zugrunde.

3. Die Sporen, sowie die Zellen von sporenlosen Arten halten sehr tiefe Temperaturen aus. Die vegetativen Zellen der sporentragenden Arten erliegen schon der Winterkälte.

4. Die Sporen halten, hauptsächlich eingetrocknet, ziemlich hohe Temperaturen aus. Eingetrocknet ist auch Oscillaria sehr resistent. Feucht macht sich eine absteigende Reihe bemerkbar, von Cylindrospermum über Nostoc zu Oscillaria. Noch empfindlicher als die sporenlose Form sind die vegetativen Fäden der sporentragenden.

V. Ökologisches.

Wir haben in den vorhergehenden Kapiteln eine ganze Reihe von Eigenschaften der Gattung Cylindrospermum kennen gelernt. Es fragt sich nun, welche Vorteile erwachsen der Alge draußen, an natürlichen Standorten, aus diesen Eigentümlichkeiten. Man kann wohl annehmen, daß alle untersuchten Eigenschaften dazu beitragen, der Pflanze den Kampf ums Dasein zu erleichtern. Hauptsächlich wohl den Kampf gegen die austrocknungsfähigen, ebenfalls sporentragenden Nostocarten. Ein Nostoc wird jedoch, wenn der Boden nur ganz oberflächlich angefeuchtet wird, sofort auskeimen. (Angestellte Versuche ergaben, daß schon nach 24stündigem Aufenthalt in Feuchtigkeit die Keimung einsetzt.) Folgt nun aber sofort auf solche Anfeuchtung des Bodens eine plötzliche Austrocknung, wie sie durch starke Sonnenbestrahlung des nackten Bodens leicht eintreten kann, so ist Nostoc immer dem Untergang geweiht, denn die jungen Fäden haben inzwischen noch keine neuen Sporen gebildet. Cylindrospermum dagegen wird immer erst auskeimen, wenn eine längere Feuchtigkeitsperiode, verbunden mit der Anwesenheit der richtigen Nährstoffe, genügende Garantie für die Bildung neuer Sporen bietet. Nostoc hilft sich über diesen Nachteil dadurch hinweg, daß es eine unendlich größere Menge von Sporen bildet, als Cylindrospermum. Bei Nostoc zerfällt der ganze Faden in Sporen, man kann wohl sagen, fast jede Zelle wird zu einer Dauerzelle umgebildet. Bei Cylindrospermum hingegen bildet jeder Faden nur eine, bei einigen Arten höchstens eine kurze Kette von drei bis vier Sporen. Diese relativ geringe Anzahl genügt bei ihrer großen Dauerhaftigkeit vollkommen.

Nostoc wächst rascher, herrscht daher auch in der Bodenflora vor, doch findet sich auch Cylindrospermum ziemlich häufig. Beide Gattungen werden ihre hauptsächliche Verbreitung durch den Wind finden. Einen Vorteil besitzt letzteres noch vor Nostoc; sein deutlich geringeres Bedürfnis von Stickstoffsalzen. Solche Stellen, wie der öfters erwähnte Garten in Naumburg, müssen sehr arm an diesen Salzen sein, sonst würde die Gattung Cylindrospermum dort nicht die Nostocarten fast vollständig verdrängt haben. Interessant ist übrigens, daß in diesem Garten früher in jeder Regenperiode dicke Polster von Nostoc, die sogenannten Sternschnuppen, auftraten. Natürlich darf

man aus den Kulturversuchen in Flüssigkeit nicht schließen, daß Cylindrospermum nur an solchen Stellen wachsen kann, wo sehr geringe Mengen von Stickstoff im Boden vorhanden sind. Die Erde ist ja auch, wie Gips, Ton und Kieselgallerte, ein halbfeuchtes Substrat und kann, wie oben (S. 24) gezeigt, schädliche Einflüsse abschwächen. Ein höherer Gehalt an Stickstoff wird also das Wachstum nicht verhindern. Es wird dann aber immer der Konkurrenzkampf mit Nostoc beginnen, denn erst der höhere Gehalt an Stickstoffsalzen ermöglicht es dieser Gattung, sich üppig zu vermehren.

Die Resistenz der Spore, wenigstens der trockenen Spore, gegen hohe Temperaturen wird in der Natur auch nicht so selten in Anspruch genommen werden, wie man schlechthin annehmen könnte. Wenn der nackte, dunkle Boden, auf dem die Sporen liegen, im heißen Sommer direkt von der Sonne bestrahlt wird, so nimmt er selbst bei uns recht hohe Temperaturen an. Nach Warming (Verz. 13) sind 50 Grad auf dunklem Boden nichts seltenes. Schimper gibt, freilich für die Tropen, sogar als stärkste Erwärmung 84 Grad an. (Verz. 10.) Derartige Einwirkungen kann der Organismus mit Hilfe seiner gut ausgebildeten Sporen dann leicht überwinden. Die kalte Jahreszeit wird ebenfalls nur von den Dauerzellen überlebt, schon einige Tage Nachtfrost genügen, die zarten, vegetativen Fäden zu zerstören. Die sporenlosen Oscillarien sind so an derartige Extreme angepaßt, daß sie nicht darunter zu leiden haben.

Zusammenfassung.

1. Durch Anhäufung nach Beijerinck in Wasser und wenig trockener Erde ist es leicht möglich, eine große Anzahl von sporentragenden Cyanophyceen zu gewinnen. Sehr häufig treten dabei Vertreter der Gattung Cylindrospermum auf.

2. Es gelang durch Überimpfen auf Kieselgallerte, die einzelnen Arten voneinander zu trennen. Hingegen schlugen die Versuche, absolute Reinkulturen zu gewinnen, fehl.

3. Unter den gefundenen Arten befanden sich zwei, die als Cylindrospermum licheniforme angesprochen werden mußten. Da sie jedoch morphologisch wie physiologisch Verschiedenheiten aufwiesen, so wurde unterschieden zwischen einer forma typica und einer forma Lemmermanni.

4. Der Verlauf der Keimung ist für jede Art bezeichnend und von der der anderen, wenn auch nur wenig, verschieden.

5. Die geeignetste Nährlösung ist für die einzelnen Arten fast gleich. Immer ist Kalziumnitrat die beste Stickstoffquelle.

6. Der Stickstoff der Luft wird von dieser Organismengruppe nicht assimiliert. Sie sind an eine geringe Menge von Stickstoffsalz gebunden.

7. Die Sporenbildung wird veranlaßt durch Erschöpfung der Lösung. Die Keimung durch Zufuhr frischer Nährstoffe.

8. Sporen werden noch gebildet bei sehr geringen Mengen von Stickstoff, ebenso von Phosphor. Das Auskeimen wird dann veranlaßt durch den Stoff, der vorher im Minimum war.

9. Die Dauerzellen sind gegen Hitze und Kälte sehr resistent, ebenso gegen das Eintrocknen. Die vegetativen Zellen der sporentragenden Arten gehen schon bei geringen Hitze- und Kältegraden zugrunde.

Zum Schluß möchte ich Herrn Professor Dr. Karsten und Herrn Privatdozent Dr. Pringsheim meinen ergebensten Dank aussprechen für die vielen Anregungen und Unterstützungen, sowie für das große Interesse, das sie meiner Arbeit entgegenbrachten.

Literaturverzeichnis.

1. Behrens, Tabellen zum Gebrauch bei mikroskopischen Arbeiten. Braunschweig 1898.
2. M. W. Beijerinck, Über oligonitrophile Mikroben. Bakteriol. Zentralblatt, II. Bd., 7. Jahrg., 1901.
3. Hegler, Untersuchungen über die Organisation der Phycochromaceenzelle. Pringsheims Jahrbücher, Bd. 36, Jahrg. 1891.
4. Kohl, Über die Organisation und Physiologie der Cyanophyceenzelle. Jena 1903.
5. Küster, Anleitung zur Kultur der Mikroorganismen. Leipzig u. Berlin 1907.
6. Landold-Börnstein, Physikalisch-chemische Tabellen. Berlin 1912.
7. Lemmermann, Kryptogamenflora der Mark Brandenburg, Algen I. Leipzig 1910.
8. E. G. Pringsheim, Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. Kultur von Algen in Agar. Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. XI, Jahrg. 1912.
9. E. G. Pringsheim, Kulturvers. m. chlorophyllf. Mikroorg. Zur Physiologie der Schizophyceen. Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. XII, 1913.
10. Schimper, Pflanzengeographie auf physiologischer Grundlage. Jena 1913.
11. Schloesing fils u. Laurent, Fixation de l'azote libre par les plantes. Ann. d. l'inst. Pasteur, T. VI, 1892.
12. Stockhausen, Ökologie, „Anhäufungen nach Beijerinck". Berlin 1907.
13. Warming, Lehrbuch der ökologischen Pflanzengeographie. Berlin 1902.
14. Wester, Studien über das Chitin. Archiv für Pharmazie, Bd. 247, Jahrg. 1909.

Erklärung der Tafeln.

(1 μ des Objekts gleich 0,56 mm auf der Tafel.)

Tafel I.

1. Cylindrospermum licheniforme forma typica.
2. Cylindrospermum licheniforme forma Lemmermanni.
3. Cylindrospermum muscicola.
4. Cylindrospermum minutissimum.
5. Cylindrospermum catenatum.
6. Cylindrospermum majus.

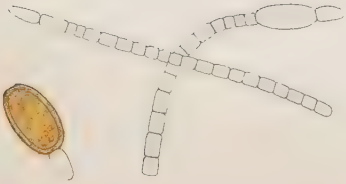
Tafel II.

1. Keimung von C. minutissimum:
   - 1a. Erste Querwandbildung.
   - 1b. Die Haut reißt an der Seite auf.
   - 1c., 1d. Der Keimling wächst aus der Spore heraus.
   - 1e., 1f. Die Dicke des Fadens wird reduziert.
2. Keimung von C. licheniforme form. typ.:
   - 2a. Die Spore hellt sich an einem Ende auf.
   - 2b., 2c. Der Inhalt wächst schlauchförmig heraus.
   - 2d. Mehrere Querwände werden gleichzeitig gebildet.
   - 2e. Die Dicke des Fadens wird reduziert.
3. Keimung von C. majus:
   - 3a. Die Spore hellt sich an einem Ende auf.
   - 3b. Der Keimling zertrümmert die Sporenwand.
   - 3c., 3d. Die Dicke des Fadens wird reduziert.
4. Keimung von C. muscicola:
   - 4a., 4b. Der Inhalt der Spore kriecht heraus.
   - 4c. Der Sporeninhalt wächst ein Stück ohne Querwandbildung.
   - 4d. Mehrere Querwände werden gleichzeitig gebildet.
   - 4e. Die Dicke des Fadens wird reduziert.
   - 4f. Ein älterer Faden, der die Hülle verlassen hat.
   - 4g. Ein sehr junger Faden, der schon die Hülle verlassen hat.

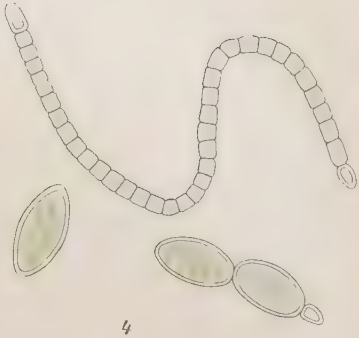
5. Keimung von C. catenatum:
   5a. } Der Inhalt der Spore durchbricht die Wand.
   5b. }
   5c. Er hat die Hülle ohne Querwandbildung schon verlassen.
   5d. Mehrere Querwände werden gleichzeitig gebildet.
   5e. Die Dicke des Fadens wird reduziert.
6. Keimung von C. licheniforme form. Lemm.:
   6a. Die Spore hellt sich an einem Ende auf.
   6b. Der Inhalt wächst schlauchförmig heraus.
   6c. Mehrere Querwände werden gleichzeitig gebildet.
   6d. Die Dicke des Fadens wird reduziert.

1

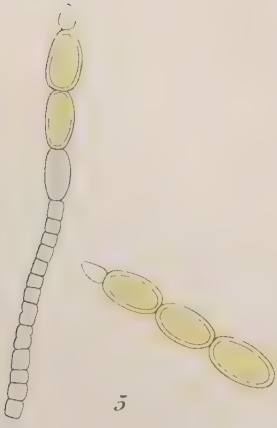
2



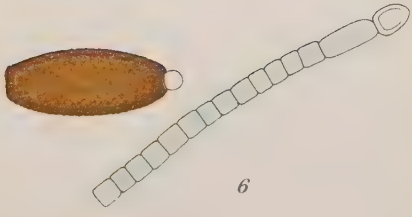
3



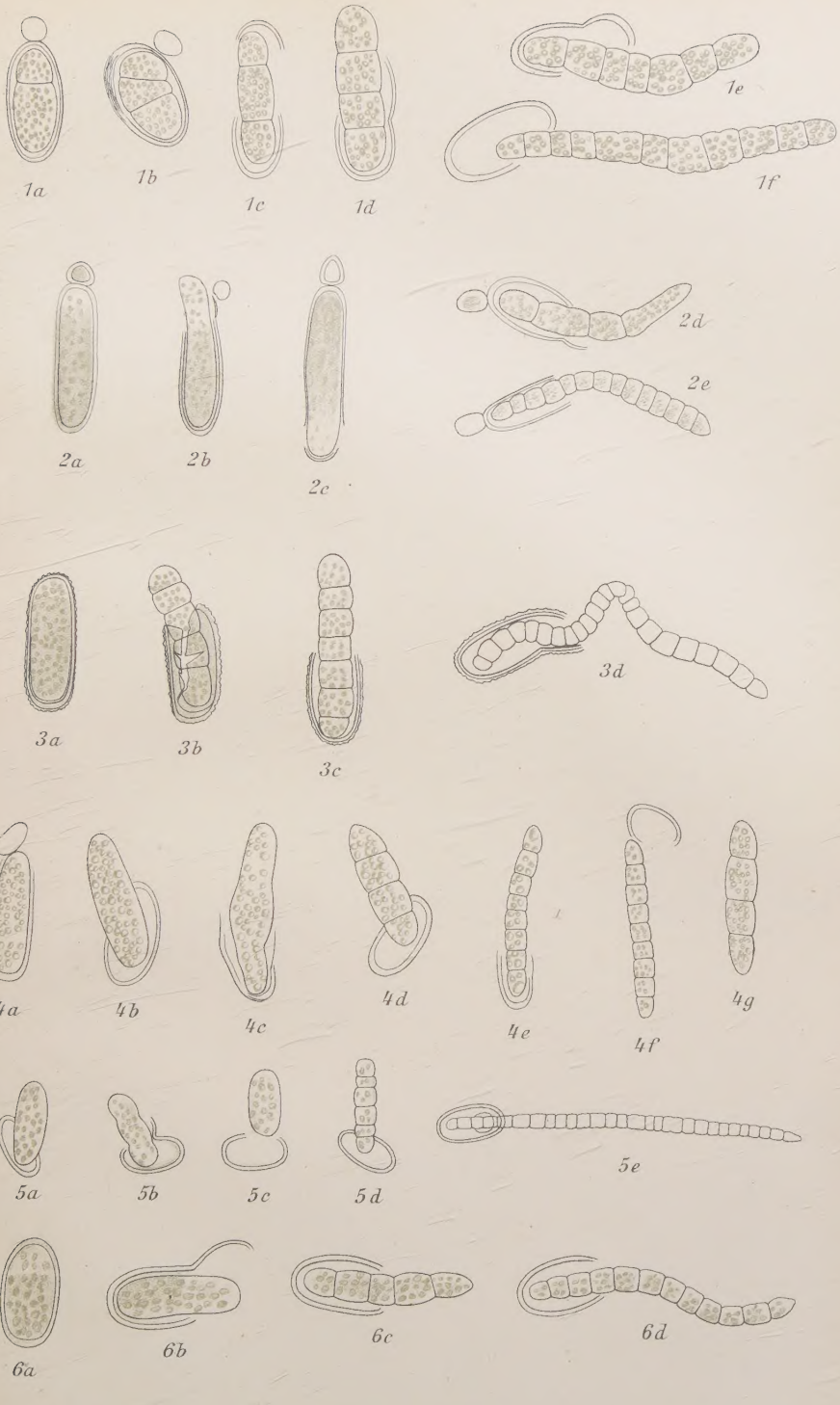
4



5



6



R. Glade del.

Lith. Anst. v. C. Kurst, Leipzig.

Lebenslauf.

Am 17. Oktober 1889 wurde ich als Sohn des Buchbindereibesitzers Ernst Glade in Magdeburg geboren. Nach 3½jährigem Besuch der Vorbereitungsschule bezog ich Ostern 1899 das Realgymnasium zu Magdeburg. Ostern 1909 bestand ich an dieser Anstalt das Abiturientenexamen.

Ich widmete mich darauf dem Studium der Naturwissenschaften zuerst in Jena bis Oktober 1911, dann in Halle. Hier begann ich im Sommersemester 1912 vorliegende Untersuchung unter der Anleitung des Herrn Prof. Dr. Karsten und des Herrn Privatdozenten Dr. Pringsheim.

Im Verlauf meiner Studien besuchte ich Vorlesungen und Übungen bei folgenden Herren Professoren und Dozenten:

in Jena bei

Stahl, Dettmer, Plate, Eucken, Knorr, Wolf, Winkelmann, Binswanger, Strohmayer, Linck und *Haußner,*

in Halle bei

Karsten, Ruhland, Pringsheim, Haecker, Vorländer, Dorn, Vries, Walther, Wangerin und *Uphues.*

Allen diesen Herren spreche ich auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank aus.

Druck von R. Nischkowsky in Breslau